

0 9 / 446 <sup>30/</sup> 373 90



|       |             |
|-------|-------------|
| REC'D | 14 OCT 1998 |
| WIPO  | PCT         |

**Bescheinigung**

Frau Hildegard B l u m e in Übach-Palenberg/Deutschland  
hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Oxidations- und Bleichsystem mit enzymatisch her-  
gestellten Oxidationsmitteln"

am 20. Juni 1997 beim Deutschen Patentamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wieder-  
gabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patentamt vorläufig die Sym-  
bole C 07 B, C 07 C und D 06 L der Internationalen Patent-  
klassifikation erhalten.

München, den 6. Oktober 1998

Der Präsident des Deutschen Patentamts

In Auftrag

Stech

Zeichen: 197 26 323.2

## Oxidations- und Bleichsystem mit enzymatisch hergestellten Oxidationsmitteln

Aus einer Reihe von Literaturstellen und Übersichtsarbeiten wie z.B.:

„Preparative Biotransformations“, S.M. Roberts, K. Wiggins, G. Casy, 1992, J. Wiley & Sons Ltd. ist bekannt, daß Enzyme, wie bestimmte Lipasen über die Bildung von Peroxisäuren, (Perfettsäuren) in der Lage sind, Epoxide zu bilden. So wird z.B. im System Lipase (aus *Candida antarctica*) unter kontinuierlicher Zugabe von  $H_2O_2$  und Vorhandensein von bestimmten Fettsäuren wie z.B. Tetradeconsäure (Mystrinsäure) oder Dodecansäure (Laurinsäure) aus Cycloocten das entsprechende Epoxid gebildet.

Auch ist bekannt, daß aus Mangan-Peroxidasen + ungesättigte Fettsäuren Persäuren entstehen können, die wiederum als  $H_2O_2$ -Quelle für die Mangan-Peroxidasen dienen können (Literatur: B<sup>W</sup> Bogan, et. al., Applied and Enviromental Microbiology, Vol. 62, No.5, S. 1788- 1792).

Ebenso gibt es einige Patente, die die Bildung von Persäuren mit Hilfe von Haloperoxidasen zeigen.

Desweiteren ist bekannt, daß man in situ aus Persäuren oder Persäuresalzen (wie Oxon) und Aceton, als einfachstes Keton, Dimethyldioxiran herstellen kann. Ebenso finden weitere Ketone anstelle von Aceton Anwendung. Die Herstellung von Dioxiranen kann auch als Reinsubstanz vor dem Einsatz als Oxidationsmittel erfolgen, allerdings ist die Stabilität problematisch.

(WO 92/13993)

Die Einsatzmöglichkeiten dieser sehr starken und sehr selektiven Oxidationsmittel ist für viele Oxidationsreaktionen denkbar (z.B. Epoxidreaktionen etc.). Seit einiger Zeit wird v.a. der Einsatz als Bleichmittel in der Zellstoffindustrie vorgeschlagen, der aber wegen der Gefährlichkeit der ellung und der hohen Kosten bisher keine Akzeptanz gefunden hat

(WO 92/13993).

Das Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, ein sehr selektives Oxidations- bzw. Bleichsystem für den Einsatz in der Zellstoffbleiche oder Holzstoffbleiche, für den Einsatz zur oxidativen Behandlung von Abwässern aller Art, den Einsatz bei der Herstellung von Holzverbundstoffen, für den Einsatz als enzymatisches Deinksystem, für den Einsatz als oxidatives Agens bei der organischen Synthese, für den Einsatz bei der Kohleverflüssigung, für den Einsatz als Bleichsystem in Waschmitteln, für den Einsatz als Bleichmittel oder Oxidationsmittel in der Textilindustrie (z.B. stone washing und Bleiche von Geweben) zur Verfügung zu stellen, welches

viele der Nachteile von rein chemischen Systemen (z.B. Umweltprobleme) oder enzymatischen Systemen (oft zu geringe Performance und hohe Kosten) nicht aufweist.

Es wurde überraschenderweise gefunden, daß z.B. bei Vorhandensein von bestimmten Lipasen, Oxidationsmitteln wie z.B.  $H_2O_2$ , bestimmten Fettsäuren und bestimmten Ketonen z.B. eine **Bleiche von Zellstoff** bei gleichzeitiger erheblicher Reduktion der Kappazahl (Delignifizierung) erzielt wurde, d.h. es konnte überraschenderweise nachgewiesen werden, daß bei Vorhandensein der entsprechenden optimalen Komponenten in optimalem Verhältnis und Konzentrationen zueinander eine mit den chemischen Systemen zur Dioxiranbildung vergleichbare Bleichwirkung bei der oben genannten Zellstoffbleiche erzielt werden kann.

Desweiteren konnte überraschenderweise eine erhebliche Bleichwirkung bei der **Bleiche von Holzstoffen**, Bleiche von **Stoffen nach Deinkingprozessen**, eine oxidative Polymerisation von Lignin und/oder ligninähnlichen Stoffen beim Einsatz bei der **oxidativen Behandlung von Abwässern** aller Art, wie Abwässern aus der Holzstoffherstellung (Holzschliff, Refinerstoff), aus der Zellstoffindustrie und farbstoffbelasteten Abwässern, z.B. der Textilindustrie, nachgewiesen werden, wobei bei den meisten dieser Abwässer neben Entfärbung und Aufoxidierung und damit „Zerstörung“ umweltbelastender Stoffe, die Aufpolymerisierung von Ligninstoffen die bevorzugte Anwendung ist, damit verbunden die starke Vergrößerung der Moleküle, die leichtere und wesentlich kostengünstigere Ausfällung dieser Polymerisate und damit Eliminierung aus der CSB- Bilanz.

Ebenfalls konnte diese oxidative Polymerisation von Lignin und/oder ligninähnlichen Stoffen überraschenderweise beim Einsatz bei der **Herstellung von Holzverbundstoffen** (Binder- und/oder Kleberherstellung durch oxidative Polymerisation der vorhandenen Ligninpolymerenylpropankörper) bestätigt werden. Darüberhinaus konnte ebenso überraschenderweise eine **Druckfarbenablösung beim Deinkprozess** (wahrscheinlich durch Quellung der ligninhaltigen Altpapierfasern verursacht) nachgewiesen werden. Ebenso wurde überraschenderweise **Kohleverflüssigungseigenschaften** bei der Behandlung von Braun- oder Steinkohle, gefunden. Daneben wurde ebenfalls überraschenderweise eine hohe und selektive Oxidationskraft beim Einsatz als „Oxidationsmittel“ in der organischen Synthese, eine hohe Bleichkraft beim Bleichmitteleinsatz in Waschmitteln, bei der generellen **Bleiche von Textilgeweben bzw. die spezielle Bleiche beim Einsatz bei Stone-wash-Prozessen**, nämlich als Ersatz für die mechanische Farbentfernung und/oder Nachbleiche bei diesen Prozessen, bewiesen.

Das (die) verantwortliche(n) Oxidationsmittel können z.B. aus den vorhandenen Ketonen + der gebildeten Persäuren gebildete Dioxirane sein, die dann für die o.g. Anwendungen als Oxidations- oder Bleichmittel entweder alleine oder in Kombination mit den gebildeten Persäuren dienen.

Die obige Aufgabe wird also dadurch gelöst, indem ein erfindungsmäßiges Enzym-Komponenten-System (ECS) zur Verfügung gestellt wird, das eine oder mehrere Lipasen, bevorzugt aus der Gruppe der Triacylglycerinlipasen (3.1.1.3) oder eine oder mehrere Amidasen, bevorzugt aus der Gruppe der Amidasen (3.5.1.4) (**Systemkomponente 1**), enthält, welche aus einer oder mehreren vorhandenen Fettsäuren (bevorzugt sind C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub> -, besonders bevorzugt C<sub>8</sub> bis C<sub>16</sub> - Fettsäuren) (**Systemkomponente 2**), sowie unter Vorhandensein von Oxidationsmitteln wie Peroxiden, bevorzugt H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (**Systemkomponente 3**) über die Bildung von Persäuren aus als weitere Komponente vorhandenen Ketonen (**Systemkomponent 4**) z.B. Dioxirane produzieren

**Beschreibung der verschiedenen Anwendungen des erfindungsgemäßen Enzym-Komponentensystems (ECS):**

- I) Einsatz in der Zellstoff/Holzstoffbleiche,**
- II) Einsatz:**
  - a) bei der Behandlung von v.a. Holzstoffabwässern der Papierindustrie und**
  - b) Abwässer anderer Industriezweige,**
- III) Einsatz bei der Herstellung von Ligninlösungen oder Gelen, von entsprechenden Bindern/Klebern und von Holzverbundstoffen,**
- IV) Einsatz als enzymatisches Deinksystem,**
- V) Einsatz als Oxidationssystem bei der organischen Synthese**
- VI) Einsatz bei der Kohleverflüssigung**
- VII) Einsatz als Bleichmittel in Waschmitteln**
- VIII) Einsatz in der Beiche/Entfärbung von Textilgeweben.**

**D) Einsatz des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) in der Zellstoff/Holzstoffbleiche**

Als heute hauptsächlich zur Zellstoffherstellung verwendete Verfahren sind das Sulfat- und das Sulfithverfahren zu nennen. Mit beiden Verfahren wird unter Kochung und unter Druck Zellstoff erzeugt. Das Sulfat-Verfahren arbeitet unter Zusatz von NaOH und  $\text{Na}_2\text{S}$ , während im Sulfith-Verfahren  $\text{Ca}(\text{HSO}_3)_2 + \text{SO}_2$  zur Anwendung kommen, bzw. heute wegen ihrer besseren Löslichkeit die Natrium- oder Ammoniumsalze des Hydrogensulfits.

Alle Verfahren haben als Hauptziel die Entfernung des Lignins aus dem verwendeten Pflanzenmaterial, Holz oder Einjahrespflanzen.

Das Lignin, das mit der Cellulose und der Hemicellulose den Hauptbestandteil des Pflanzenmaterials (Stengel oder Stamm) ausmacht, muß entfernt werden, da es sonst nicht möglich ist, nicht vergilbende und mechanisch hochbelastbare Papiere herzustellen.

Die Holzstofferzeugungsverfahren arbeiten mit Steinschleifern (Holzschliff) oder mit Refinern (TMP), die das Holz nach entsprechender Vorbehandlung (chemisch, thermisch oder chemisch-thermisch) durch Mahlen defibrillieren.

Diese Holzstoffe besitzen noch einen Großteil des Lignins. Sie werden v. a. für die Herstellung von Zeitungen, Illustrierten, etc. verwendet.

Seit einigen Jahren werden die Möglichkeiten des Einsatzes von Enzymen für den Ligninabbau erforscht. Der Wirkmechanismus derartiger lignolytischer Systeme ist erst vor wenigen Jahren aufgeklärt worden, als es gelang, durch geeignete Anzuchtbedingungen und Induktorzusätze bei

dem Weißfäulepilz *Phanerochaete chrysosporium* zu ausreichenden Enzymmengen zu kommen. Hierbei wurden die bis dahin unbekannten Ligninperoxidasen und Manganperoxidasen entdeckt. Da *Phanerochaete chrysosporium* ein sehr effektiver Ligninabbauer ist, versuchte man dessen Enzyme zu isolieren und in gereinigter Form für den Ligninabbau zu verwenden. Dies gelang jedoch nicht, da sich herausstellte, daß die Enzyme vor allem zu einer Repolymerisation des Lignins und nicht zu dessen Abbau führen.

Ähnliches gilt auch für andere lignolytische Enzymspezies wie Laccasen, die das Lignin mit Hilfe von Sauerstoff anstelle von Wasserstoffperoxid oxidativ abbauen. Es konnte festgestellt werden,

daß es in allen Fällen zu ähnlichen Prozessen kommt. Es werden nämlich Radikale gebildet, die wieder selbst miteinander reagieren und somit zur Polymerisation führen.

So gibt es heute nur Verfahren, die mit in-vivo Systemen arbeiten (Pilzsysteme).

Hauptschwerpunkte von Optimierungsversuchen sind das sogenannte **Biopulping** und das **Bioleaching**.

Unter **Biopulping** versteht man die Behandlung von Holzhackschnitzeln mit lebenden Pilzsystemen.

Es gibt 2 Arten von Applikationsformen:

1. Vorbehandlung von Hackschnitzeln vor dem Refinern oder Mahlen zum Einsparen von Energie bei der Herstellung von Holzstoffen (z.B. TMP oder Holzschliff).

Ein weiterer Vorteil ist die meist vorhandene Verbesserung der mechanischen Eigenschaften des , ein Nachteil die schlechtere Endweiße.

2. Vorbehandlung von Hackschnitzeln (Softwood/Hardwood) vor der Zellstoffkochung (Kraftprozeß, Sulfitprozeß).

Hier ist das Ziel, die Reduzierung von Kochchemikalien, die Verbesserung der Kochkapazität und "extended cooking".

Als Vorteile werden auch eine verbesserte Kappareduzierung nach dem Kochen im Vergleich zu einem Kochen ohne Vorbehandlung erreicht.

Nachteile dieser Verfahren sind eindeutig die langen Behandlungszeiten (mehrere Wochen) und v.a. die nicht gelöste Kontaminierungsgefahr während der Behandlung, wenn man auf die wirtschaftliche Sterilisation der Hackschnitzel verzichten will.

Das **Bioleaching** arbeitet ebenfalls mit in-vivo Systemen. Der gekochte Zellstoff (Softwood/Hardwood) wird vor der Bleiche mit dem Pilz beimpft und für Tage bis Wochen behandelt. Nur nach dieser langen Behandlungszeit zeigt sich eine signifikante Kappazahlerniedrigung und Weißesteigerung, was den Prozeß unwirtschaftlich für eine Implementierung in den gängigen Bleichsequenzen macht.

Eine weitere, meist mit immobilisierten Pilzsystemen, durchgeführte Applikation ist die **Behandlung von Zellstoffabfabrikationsabwässern**, insbesondere Bleichereiabwässern zu deren

Entfärbung und Reduzierung des AOX (Reduzierung von chlorierten Verbindungen im Abwasser, die Chlor- oder Chlordioxid-Bleichstufen verursachen).

Darüber hinaus ist bekannt, Hemicellulasen u.a. Xylanasen, Mannanasen als "**Bleichbooster**" einzusetzen.

Diese Enzyme sollen hauptsächlich gegen das nach dem Kochprozeß das Restlignin zum Teil überdeckende reprecipitierte Xylan wirken und durch dessen Abbau die Zugänglichkeit des Lignins für die in den nachfolgenden Bleichsequenzen angewendeten Bleichchemikalien (v.a. Chlordioxid) erhöhen. Die im Labor nachgewiesenen Einsparungen von Bleichchemikalien wurden in großem Maßstab nur bedingt bestätigt, so daß man diesen Enzymtyp allenfalls als Bleichadditiv einstufen kann.

Anmeldung PCT/EP87/00635 wird ein System zur Entfernung von Lignin aus lignincellulosehaltigem Material unter gleichzeitiger Bleiche beschrieben, welches mit lignolytischen Enzymen aus Weißfäulepilzen unter Zusatz von Reduktions- und Oxidationsmitteln und phenolischen Verbindungen als Mediatoren arbeitet.

In der DE 4008893C2 werden zusätzlich zum Red/Ox-System "Mimic Substanzen", die das aktive Zentrum (prothetische Gruppe) von lignolytischen Enzymen simulieren, zugesetzt. So konnte eine erhebliche Performanceverbesserung erzielt werden.

In der Anmeldung PCT/EP92/01086 wird als zusätzliche Verbesserung eine Redoxkaskade mit Hilfe von im Oxidationspotential "abgestimmten" phenolischen oder nichtphenolischen Aromaten eingesetzt.

Allen drei Verfahren ist die Limitierung für einen großtechnischen Einsatz die Anwendbarkeit bei geringen Stoffdichten (bis maximal 4%) und bei den beiden letzten Anmeldungen zusätzlich die Gefahr des "Ausleachens" von Metallen beim Einsatz der Chelatverbindungen, die v.a. bei nachgeschalteten Peroxidbleichstufen zur Zerstörung des Peroxids führen können.

Aus WO/12619, WO 94/12620 und WO 94/12621 sind Verfahren bekannt, bei welchen die Aktivität von Peroxidase mittels sogenannter Enhancer-Substanzen gefördert wird.

Die Enhancer-Substanzen werden in WO 94/12619 anhand ihrer Halbwertslebensdauer charakterisiert.

Gemäß WO 94/12620 sind Enhancer-Substanzen durch die Formel  $A=N-N=B$  charakterisiert, wobei A und B jeweils definierte cyclische Reste sind.

Gemäß WO 94/12620 sind Enhancer-Substanzen organische Chemikalien, die mindestens zwei aromatische Ringe enthalten, von denen zumindest einer mit jeweils definierten Resten substituiert ist.

Alle drei Anmeldungen betreffen "dye transfer inhibition" und den Einsatz der jeweiligen Enhancer-Substanzen zusammen mit Peroxidasen als Detergent-Additiv oder Detergent-Zusammensetzung im Waschmittelbereich.

Zwar wird in der Beschreibung der Anmeldung auf eine Verwendbarkeit zum Behandeln von Lignin verwiesen, aber eigene Versuche mit den in den Anmeldungen konkret offenbarten Substanzen zeigten, daß sie als Mediatoren zur Steigerung der Bleichwirkung der Peroxidasen beim Behandeln von ligninhaltigen Materialien keine Wirkung zeigten!

WO 94/29510 beschreibt ein Verfahren zur enzymatischen Delignifizierung, bei dem Enzyme mit Mediatoren eingesetzt werden. Als Mediatoren werden allgemein Verbindungen mit der Struktur NO-, NOH- oder HRNOH offenbart.

Von den in WO 94/29510 aufgeführten Mediatoren liefert 1-Hydroxy-1H-benzotriazol (HBT) die besten Ergebnisse in der Delignifizierung. HBT hat jedoch verschiedene Nachteile:

- \* Es ist nur zu hohen Preisen und nicht in hinreichenden Mengen verfügbar.
- \* Es reagiert unter Delignifizierungsbedingungen zu 1H-Benzotriazol.
- \* Diese Verbindung ist relativ schlecht abbaubar und kann in größeren Mengen eine beträchtliche Umweltbelastung darstellen.
- \* Es führt in gewissem Umfang zu einer Schädigung von Enzymen.
- \* Seine Delignifizierungsgeschwindigkeit ist nicht allzu hoch.

Weitere Mediatoren des beschriebenen NO-, NOH- und HRN-OH-Typs zeigen die gleichen Nachteile nicht, haben aber immer noch den Nachteil des relativ hohen Chemikalieneinsatzes, wobei die eingesetzten Chemikalien v.a. auch durch ihre physiologische Reaktivität nicht ganz unbedenklich sein können.

Es ist daher wünschenswert, Systeme zum Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen zur Verfügung zu stellen, die die genannten Nachteile nicht oder in geringerem Maße aufweisen.

Es wurde nun völlig überraschend gefunden, daß beim Einsatz des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) ähnliche oder bessere Delignifizierungs- und Bleichergebnisse im Vergleich zu den oben erwähnten Oxidoreduktase-Mediatorsystemen erreicht wurden und die genannten Nachteile zu vernachlässigen sind, d.h.



die obige Aufgabe wird dadurch gelöst, indem ein erfindungsmäßiges Enzym-Komponenten-System (ECS) zur Verfügung gestellt wird, welches eine oder mehrere Lipasen, bevorzugt aus der Gruppe der Triacylglycerinlipasen (3.1.1.3) oder eine oder mehrere Amidasen, bevorzugt aus der Gruppe der Amidasen (3.5.1.4) (**Systemkomponente 1**), enthält, welche aus einer oder mehreren vorhandenen Fettsäuren (bevorzugt sind  $C_6$  bis  $C_{26}$  -, besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$  - Fettsäuren) (**Systemkomponente 2**), sowie unter Vorhandensein von Oxidationsmitteln wie Peroxiden, bevorzugt  $H_2O_2$  (**Systemkomponente 3**) über die Bildung von Persäuren aus als weitere Komponente vorhandenen Ketonen (**Systemkomponente 4**) z.B. Dioxirane produzieren kann.

## **II. Der Einsatz des erfindungsgemäßen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) zur enzymatischen Behandlung von Spezialabwässern (Papierindustrieabwässer z.B. aus Holzschliff- Anlagen oder Refineranlagen)**

Oxidasen und Peroxidasen weisen im Gegensatz zu den meisten Enzymen eine geringe Substratspezifität auf, d.h. sie können ein breites Spektrum von Substanzen, im Normalfall phenolischer Natur, umsetzen. Ohne Mediatoren neigen die Oxidasen, aber auch viele Peroxidasen dazu, phenolische Substanzen radikalisch zu polymerisieren, eine Eigenschaft, die z.B. der zu den Oxidasen gehörenden Laccase auch in der Natur zugeschrieben wird. Diese Fähigkeit, geeignete Stoffe wie z.B. Lignine zu polymerisieren, d.h. die entsprechenden Moleküle durch „Kopplungsreaktionen“ zu vergrößern kann z.B. zur Behandlung ligninhaltiger Abwässer Papierindustrie wie TMP-Abwässer (Abwässer aus der Herstellung von thermomechanical pulps mittels Refinern) sowie Schleifereiabwässer aus Holzschliffanlagen genutzt werden.

Die in diesen Abwässern enthaltenen wasserlöslichen Ligninverbindungen (Polyphenolpropankörper) sind hauptsächlich verantwortlich für den hohen CSB (Chemischen Sauerstoffbedarf = hohe Belastung mit organischem Material) und können mit herkömmlicher Technologie nicht entfernt werden. In der Kläranlage und den nachfolgenden Gewässern sind sie nicht oder nur sehr langsam abbaubar. Diese Verbindungen können sogar bei zu hohen Konzentrationen hemmend auf die Bakterien einer Kläranlage wirken und zu Störungen führen.

Die Enzymwirkung ist bei dieser Anwendung sofort durch eine rasche Eintrübung des behandelten Abwassers zu erkennen, verursacht durch die vergrößerten und damit unlöslich werdenden Ligninmoleküle. So durch enzymatische Katalyse im Molekulargewicht vergrößert,

lassen sich die Zielmoleküle (polymerisiertes Lignin) durch entsprechende Behandlungen (Flokkulation, Fällung z.B. mit Aluminiumsulfat/Natriumaluminat, eventuell unter Zugabe von Polyelektrolyten /kationisch oder anionisch oder Sedimentation) entfernen. Das Abwasser weist danach einen deutlich reduzierten CSB auf. Es verursacht somit bei der Einleitung eine geringere Umweltbelastungen, bzw. erhöht die Sicherheit, unter den gestatteten CSB-Belastungsgrenzen zu bleiben, was v.a. bei einer „Fahrweise“ am Limit, was nicht selten der Fall ist, wichtig ist.

Bei dieser Behandlung mit z.B. nur Laccase stellt allerdings der Aufwand für die Entfernung der Reaktionsprodukte der enzymatischen Behandlung durch Flokkulierung, Sedimentation oder Fällung oder Kombinationen mehrerer Methoden den bei weitem überwiegenden Anteil der Kosten für den Gesamtprozeß dar.

Es ist nun völlig überraschenderweise gefunden, daß beim Einsatz des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) bei spezieller Kombination der Komponenten eine im Vergleich zu den oben geschilderten enzymatischen Systemen überlegene Effizienz erreicht werden kann, d.h. das erfindungsmäßige Verfahren stellt ein gegenüber den oben genannten Systemen mit Oxidoreduktasen (wie z.B. Laccasen) als Oxidationskatalisatoren ein wesentlich verbessertes System dar, dessen Vorteile v.a. in seiner höheren Oxidationskraft, in der Verwendung von sehr leicht abbaubaren Fettsäuren und Ketonen (z.B. Benzophenonen) liegt, die zwar den CSB kurzfristig erhöhen, allerdings in den nachfolgenden Kläranlageschritten leicht zu entfernen sind, d.h.

die obige Aufgabe wird dadurch gelöst, indem ein erfindungsmäßiges Enzym-Komponenten-System (ECS) zur Verfügung gestellt wird, welches eine oder mehrere Lipasen, bevorzugt aus der Gruppe der Triacylglycerinlipasen (3.1.1.3) oder eine oder mehrere Amidasen, bevorzugt aus der Gruppe der Amidasen (3.5.1.4) (**Systemkomponente 1**), enthält, welche aus einer oder mehreren vorhandenen Fettsäuren (bevorzugt sind  $C_6$  bis  $C_{26}$  -, besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$  - Fettsäuren) (**Systemkomponente 2**), sowie unter Vorhandensein von Oxidationsmitteln wie Peroxiden, bevorzugt  $H_2O_2$  (**Systemkomponente 3**) über die Bildung von Persäuren aus als weitere Komponente vorhandenen Ketonen (**Systemkomponente 4**) z.B. Dioxirane produzieren können.

Zu diesem System werden weitere spezielle Verbindungen gegeben, die als Kondensationskerne dienen und die oxidative Ligninpolymerisation wesentlich verstärken können, so daß ein Hauptziel dieser enzymatischen Abwasserbehandlung, der möglichst geringe Einsatz

von kostenintensivem Fällmittel, erreicht werden kann.

## II b) Einsatz zur enzymatischen Behandlung von Abwässern anderer Industriezweige

Alle Abwässer von Industriezweigen, in denen phenolische oder generell oxidierbare Substanzen enthalten sind (z.B. Lignin, Farbstoffe etc.), können prinzipiell mit z.B. den oben genannten Oxidoreduktasen behandelt werden. Es kommen also z.B. Abwässer von Keltereien, Olivenmühlen, von Färbereien im Bereich der Textilindustrie, Abwässer aus Zellstoffwerken etc. für eine solche Behandlung in Frage. Allerdings sollten möglichst die belasteten Teilströme vor Vermischung mit anderen Abwässern behandelt werden, um optimale Effizienz zu erzielen.

Auch hier wurde überraschenderweise gefunden, daß der Einsatz des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) sich sehr gut zur Behandlung der oben genannten Abwässer eignet und z.T. Performancevorteile gegenüber Oxidoreduktasesystemen besitzt.

er ist der Zusatz der oben genannten speziellen Verbindungen: **Polymerisationskatalysatoren** vorgesehen. Solche Stoffe können Phenole, Phenolderivate oder andere phenolische Polycyclen mit einer Reihe von oxidierbaren Hydroxylgruppen sein.

Solche Polymerisationskatalysatoren z.B. sind vorzugsweise:

Alizarin, 5-Amino-2-hydroxybenzoesäure, 3-Aminophenol, Brenzkatechin, 2,2-Bis-(4-hydroxyphenyl)-propan, Bis-(4-hydroxyphenyl)-methan, Chinalizarin, 4-Chlor-1-naphthol, Coniferylalkohol, 2,4- Diaminophenoldihydrochlorid, 3,5-Dichlor-4-hydroxyanilin, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 2,2-Dihydroxybiphenyl, 4,4-Dihydroxybiphenyl, 2,3-Dihydroxynaphthalin, 2,6-Diisopropylphenol, 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzhydrazin, Di-tert.-butyl-hydrochinon, 2,6-Di-tert.-butyl-4-methylphenol, 4-Hydroxybiphenyl, Hydroxydiphenyl-methan, 2-(2-Hydroxyphenyl)-benzothiazol, 5- Indanol, 2-Isopropoxyphenol, 4-Isopropyl-3-methylphenol, 5-Isopropyl-2-methylphenol, 4-Isopropylphenol, Laurylgallat, 2-Naphthol, 4-Nonylphenol, 3-(Pentadecyl)-phenol, 2-Propylphenol, 4-Propylphenol, Purpurin, Pyrogallol, 4-(1,1,3,3-Tetra-methylbutyl)-phenyl, 1,2,4-Trihydroxybenzol, 2,4,6-Trimethylphenol, 2,3,5-Trimethylphenol, 2,3,6-Trimethylphenol, 3,4,5-Trimethylphenol, 6,7-Dihydroxy-4-methylcumarin, 2-(2-Hydroxyethoxy)- benzaldehyd, 1-Naphthol, Nordihydroguaiaretsäure, Octylgallat, Silibinin, 3,4,6- Trihydroxybenzoesäure-octylester, 2,4,6-Tri-tert.-butylphenol, 2,4-Di-tert.-butylphenol, 2,6-Dichlorphenolindophenol, Ethoxyquin, 1-Aminoanthraquinon, 2-Amino-5-chlorobenzophenon, 4-Aminodiphenyl-amin,

7-Amino-4-hydroxy-2-naphthalensulfonsäure, 2-(4-Aminophenyl)-6-methylbenzothiazol, Benzanthron, Trioctyltrimellitat, trans-Chalcon, Bis-(4-amino-phenyl)-amin-sulfat, 2,2'-Ethylidenbis-(4,6-di-tert.-butylphenol), 2,2-Bis-(2,6-dibrom-4-(2-hydroxyethoxyphenyl)-propan, Bis-(3,5-di-tert.-butyl-4-hydroxyphenyl)-methan, 2,2-Bis-(3,5-dichlor-4-hydroxyphenyl)-propan, Bismarck Brown Y, 1-Bromonaphthalen, 4-Butylanilin, 2-tert.-butyl-5-methylphenol, 1-Chloroanthrachinon, 2-Chloroanthrachinon, Triallyl-1,3,5-benzoltricarboxylat, 1,1-Tris-(hydroxymethyl)-propan-trimethacrylat, Pentaerythritol-triacrylat, 1,2,4-Trivinylcyclohexan, trans,cis-Cycloododeca-1,5,9-trien, Pentaerythritol-tetrabenzoat, 4,4'-Methylenbis-(2,6-di-tert.-butylphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dichlorophenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dibromphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2-(2,6-dibrom-phenoxy)ethanol, 2,2'Etylidenbis-4,6-di-tert.-butyl-phenol), 3-tert-Butyl-4-hydroxy-5-methyl-phenyl, 5-tert-Butyl-4-hydroxy-2-methyl-phenyl, Syringaldazin, 4,4'-Dimethoxy-ylmethan, Di-sec. Butylphenol.

Weiterhin besonders bevorzugt sind Stoffe, die mehrere Hydroxylgruppen besitzen wie: Ellagsäure, Gallussäure, Gallein, Gallangin, Myo-Inositol, Morin, Nitranilsäure, Phenolphthalein, Purpurin, Purpurogallin, Quinizarin, Chrysazin, Quercitin, Quinhydrin, Chloranilsäure, Carmin, Rhodizonsäure, Croconsäure, Melliticsäure, Hematoxilin, 9-Phenyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, 9-Methyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, Tetrahydroxy-p-benzochinon, 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenon, Pyrogallol Red, 1-Nitrophloroglucinol, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinon, Hexaoxocyclohexanoctahydrat, 5,7-Dihydroxyflavanon, 3',4'-Dihydroxy-flavanon, Glyoxalhydrat, 1,3,5-Tris(2-Hydroxyethyl)-isocyanursäure, Chinalizarin, 2,4,5-Trihydroxybenzamin.

### **Einsatz des erfindungsgemäßen Enzym-Komponenten-System (ECS) bei der Herstellung von Ligninlösungen oder Gelen, von entsprechenden Bindern/Klebern und von Holzverbundstoffen**

Die vorliegende Erfindung hat sich zum Ziel gesetzt, ein Verfahren zur enzymatischen Polymerisation und/oder Modifizierung von Lignin oder ligninenthaltenden Materialien zur Verfügung zu stellen, z.B. zum Einsatz zur Herstellung von Holzzusammensetzungen oder Holzverbundstoffen wie z.B. „fiber board“ aus zerfasertem Holz oder „particle board“ aus Holzspänen oder Holzstücken (--> Spanplatten, Sperrholz, Holzverbundstoff-Balken).

Aus der Literatur und Patentschriften wie z.B. WO 94/01488, WO 93/23477, WO 93/25622 und DE 3037992 C2 ist bekannt, daß Laccasen, Ligninperoxidasen oder Peroxidasen zu diesem Zweck eingesetzt wurden. Allerdings ist der Hauptnachteil die v.a. im Falle von Laccasen und Ligninperoxidasen vorhandene schwierige Herstellung dieser Enzyme und die geringen Ausbeuten auch bei gentechnisch veränderten Systemen.

Es wurde nun völlig überraschend gefunden, daß auch hier das erfindungsgemäße Enzym-Komponenten-System (ECS) eine überlegene Performance zu den im Stand der Technik beschriebenen enzymatischen Systemen zur Polymerisation und/oder Modifizierung von Lignin und/oder ligninenthaltenden Materialien zeigt, d.h.

die obige Aufgabe wird dadurch gelöst, indem ein erfindungsmäßiges Enzym-Komponenten-System (ECS) zur Verfügung gestellt wird, welches eine oder mehrere Lipasen, bevorzugt aus der Gruppe der Triacylglycerinlipasen (3.1.1.3) oder eine oder mehrere Amidasen, bevorzugt aus der Gruppe der Amidasen (3.5.1.4) (**Systemkomponente 1**), enthält, welche aus einer oder mehreren vorhandenen Fettsäuren (bevorzugt sind  $C_6$  bis  $C_{26}$  -, besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$  - Fettsäuren) (**Systemkomponente 2**), sowie unter Vorhandensein von Oxidationsmitteln wie Peroxiden, bevorzugt  $H_2O_2$  (**Systemkomponente 3**) über die Bildung von Persäuren aus als weitere Komponente vorhandenen Ketonen (**Systemkomponente 4**) z.B. Dioxirane produzieren können.

Dabei wird das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System mit Lignin (z.B. Lignosulfonaten und/oder uneingedampfter oder eingedampfter Sulfitablauge und/oder Sulfatlignin --> „Kraftlignin“, z.B. Indulin) und/oder ligninenthaltendem Material zusammengebracht.

Das Lignin und/oder das ligninenthaltende Material kann entweder bei höheren pH-Werten alkaliert werden, d.h. bei pH-Werten über pH 8, bevorzugt bei pH-Werten zwischen 9.5 bis 10.5 bei 20 bis 100 °C (vorzugsweise bei 60 bis 100 °C) und daraufhin der pH-Wert unter pH 7 verschoben werden, je nach optimalem Wirk-pH-Bereich des Enzym-Komponenten-Systems (ECS) oder bei alkalischem Wirkoptimum des Enzym-Komponenten-Systems kann die Zusammengabe von ECS und Lignin und/oder ligninenthaltendem Material sofort ohne Vorbehandlung erfolgen. Die Vorbehandlung oder die Behandlung bei alkalischem pH hat den Zweck die wesentlich leichtere Löslichkeit des Lignins bei diesen höheren pH-Werten auszunützen, was für den erfindungsgemäßen Einsatz von großem Vorteil ist, da dann ohne organische Lösungsmittel gearbeitet werden kann.

Die beschriebene Zusammengabe von Enzym-Komponenten-System und Lignin und/oder

ligninenthaltenem Material dient also hauptsächlich dem Zweck, durch Oxidation eine Aktivierung der Substrate (Polyphenylpropane) herbeizuführen, d.h. durch radikalische Polymerisierung (Modifizierung) das Lignin und/oder das ligninenthaltende Material in ein aktiviertes und aktives Bindemittel zu überführen, welches dann, zusammengebracht mit zu verbindenden ( zu verklebenden) Holzfasern und/oder Holzteilen, unter Einwirkung von Druck und erhöhter Temperatur zu festen Holzverbundteilen wie die oben genannten Holzwerkstoffe, z.B. „fiber boards“ oder „particle boards“ aushärten kann.

Der Hauptvorteil liegt in der Verringerung oder Einsparung von normalerweise z.B. bei der Spanplattenherstellung zur „Verleimung“ verwendeten Harnstoff-Formaldehydharzen, die neben toxikologischer Bedenken auch nur bedingt feuchtigkeitsbeständig sind oder Phenolformaldehydharzen, die ein ungünstiges Quellverhalten und lange Presszeiten (auch wenn man neben der toxikologischen Frage) zeigen.

Zusatz von bestimmten chemischen Polymerisationskatalysatoren wie z.B.

Polydiphenylmethyldiisocyanat (PMDI) und andere auch bei der Polymerisation von Lignin in ligninhaltigen Abwässern Verwendung findende Polymerisationskatalysatoren kann die polymerisierende und/oder modifizierende Wirkung des Enzym-Komponenten-Systems weiter verstärkt werden. Solche Stoffe können Phenole, Phenolderivate oder andere phenolische Polycyclen mit einer Reihe von oxidierbaren Hydroxylgruppen sein.

Solche **Polymerisationskatalysatoren** z.B. sind vorzugsweise:

Alizarin, 5-Amino-2-hydroxy-benzoesäure, 3-Aminophenol, Brenzkatechin, 2,2-Bis-(4-hydroxyphenyl)-propan, Bis-(4-hydroxyphenyl)-methan, Chinalizarin, 4-Chlor-1-naphthol, Coniferylalkohol, 2,4- Diaminophenoldihydrochlorid, 3,5-Dichlor-4-hydroxyanilin, 1,4-droxyanthrachinon, 2,2-Dihydroxybiphenyl, 4,4-Dihydroxybiphenyl, 2,3-Dihydroxynaphthalin, 2,6-Diisopropylphenol, 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzhydrazin, 2,5-Di-tert.-butyl-hydrochinon, 2,6-Di-tert.-butyl-4-methylphenol, 4-Hydroxybiphenyl, 2-Hydroxydiphenyl-methan, 2-(2-Hydroxyphenyl)-benzothiazol, 5- Indanol, 2-Isopropoxyphenol, 4-Isopropyl-3-methylphenol, 5-Isopropyl-2-methylphenol, 4-Isopropylphenol, Laurylgallat, 2-Naphthol, 4-Nonylphenol, 3-(Pentadecyl)-phenol, 2-Propylphenol, 4-Propylphenol, Purpurin, Pyrogallol, 4-(1,1,3,3-Tetra-methylbutyl)-phenyl, 1,2,4-Trihydroxybenzol, 2,4,6-Trimethylphenol, 2,3,5-Trimethylphenol, 2,3,6-Trimethylphenol, 3,4,5-Trimethylphenol, 6,7-Dihydroxy-4-methylcumarin, 2-(2-Hydroxyethoxy)- benzaldehyd, 1-Naphthol, Nordihydroguaiarätsäure, Octylgallat, Silibinin, 3,4,6- Trihydroxybenzoesäure-octylester, 2,4,6-Tri-tert.-butylphenol, 2,4-Di-tert.-butylphenol, 2,6-Dichlorphenolindophenol,

Ethoxyquin, 1-Aminoanthraquinon, 2-Amino-5-chlorobenzophenon, 4-Aminodiphenyl-amin, 7-Amino-4-hydroxy-2-naphthalensulfonsäure, 2-(4-Aminophenyl)-6-methylbenzothiazol, Benzanthron, Trioctyltrimellitat, trans-Chalcon, Bis-(4-amino-phenyl)-amin-sulfat, 2,2'-Ethylidenbis-(4,6-di-tert.-butylphenol), 2,2-Bis-(2,6-dibrom-4-(2-hydroxyethoxyphenyl)-propan, Bis-(3,5-di-tert.-butyl-4-hydroxyphenyl)-methan, 2,2-Bis-(3,5-dichlor-4-hydroxyphenyl)-propan, Bismarck Brown Y, 1-Bromonaphthalen, 4-Butylanilin, 2-tert.-butyl-5-methylphenol, 1-Chloroanthrachinon, 2-Chloroanthrachinon, Triallyl-1,3,5-benzoltricarboxylat, 1,1-Tris-(hydroxymethyl)-propan-trimethacrylat, Pentaerythrityl-triacrylat, 1,2,4-Trivinylcyclohexan, trans,cis-Cycloododeca-1,5,9-trien, Pentaerythritol-tetrabenzoat, 4,4'-Methylenbis-(2,6-di-tert.-butylphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dichlorophenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dibromphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2-(2,6-dibrom-phenoxy)ethanol, 2,2'Etylidenbis-4,6-di-tert.-butyl-phenol), 3-tert-Butyl-4-hydroxy-5-phenyl, 5-tert-Butyl-4-hydroxy-2-methyl-phenyl, Syringaldazin, 4,4'-Dimethoxy-triphenylmethan, Di-sec. Butylphenol.

Weiterhin besonders bevorzugt sind Stoffe, die mehrere Hydroxylgruppen besitzen wie:

Ellagsäure, Gallussäure, Gallein, Gallangin, Myo-Inositol, Morin, Nitranilsäure, Phenolphthalein, Purpurin, Purpurogallin, Quinizarin, Chrysazin, Quercitin, Quinhydron, Chloranilsäure, Carmin, Rhodizonsäure, Croconsäure, Melliticsäure, Hematoxilin, 9-Phenyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, 9-Methyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, Tetrahydroxy-p-benzochinon, 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenon, Pyrogallol Red, 1-Nitrophloroglucinol, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinon, Hexaoxocyclohexanooctahydrat, 5,7-Dihydroxyflavanon, 3',4'-Dihydroxy-flavanon, Glyoxalhydrat, 1,3,5-Tris(2-Hydroxyethyl)-isocyanursäure, Chinalizarin, 2,4,5-Trihydroxybenzamin.

#### **IV) Einsatz des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System (ECS) als enzymatisches Deinking-System**

Unter Deinken, wie es heute noch durchweg als Flotationsdeinken konventionell betrieben wird, versteht man im Prinzip ein zweistufiges Verfahren.

Ziel ist die Entfernung von Druckerschwärze und anderen Farbpartikeln aus Altpapier, wobei als Altpapier meistens die sogenannte „Haushaltssammelware“, die hauptsächlich aus Zeitungen und Illustrierten besteht, zum Einsatz kommt.

Die erste Behandlungsstufe dient v.a. zur mechanisch/chemischen Entfernung der an den Papierfasern haftenden Farbpartikel. Dies geschieht durch „Zurückführen“ des Papiers in einen

einheitlichen Faserbrei, d.h. durch Aufschlagen (Zerkleinern) des Altpapiers in sogenannten Pulpem, Trommeln o.ä. unter gleichzeitiger Zugabe von ablöseverstärkenden und vergilbungsverhindernden und damit auch bleichenden Chemikalien wie Natronlauge, Fettsäure, Wasserglas und Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ).

Dabei dient die Fettsäure als sogenannter Sammler der Farbpartikel, in der zweiten Behandlungsstufe, der Flotation, auch als Schaumerzeuger.

Die Flotation wird nach dem Aufschlagen des Altpapiers und einer bestimmten Einwirkzeit der genannten Chemikalien durch Einblasen von Luft in spezielle Flotationsbehältnisse vorgenommen. Dabei lagern sich die Farbpartikel an die Schaumblasen an und werden mit diesen ausgetragen, d.h. die Farbe wird von den Papierfasern getrennt.

Heute bevorzugt man eine „Fahrweise“ in neutralerem pH-Milieu, was den Einsatz von bestimmten Detergentien anstelle der Fettsäure nötig macht.

r Literatur ( WO 91/ 14820, WO 92 20857) ist der Einsatz eines Oxidoreduktase-, bzw. Laccase- Systems bekannt, das sich v.a. durch den Zusatz von speziellen Substanzen auszeichnet, die zum einen hauptsächlich das pH-Wirkoptimum der Laccase von *Trametes versicolor*, welches normalerweise im pH-Bereich von ca. pH 4-5 liegt, in den schwach alkalischen Bereich (pH 8 bis 8.7) verschieben, was für den Einsatz als Deinksystem wegen der unter pH 7 auftretenden  $CaSO_4$ -Problematik dringend vorgegeben ist, und zum anderen die Laccasewirkung nicht in eine polymerisierende oder rein depolymerisierende Wirkungsweise „hin optimieren“, sondern nur eine gewisse Quellung der Fasern verursachen.

Diese ist aber (wie auch eine der Hauptwirkungen der Natronlauge in den rein chemischen Deinksystemen) als Ablösemechanismus für die Farbpartikel ein Hauptperformancemerkmal.

Als einziger weiterer Zusatz zu diesem enzymatischen System mit Oxidoreduktasen sind Detergentien zur Schaumerzeugung nötig.

Neben alle in Frage kommenden Detergentien haben auch farbablösende Wirkung.

Daneben bewirkt in konventionellen Deinksystemen der Einsatz von Natronlauge und Peroxid Weißesteigerungen durch die Bleichwirkung dieser Chemikalien. Diese Bleichwirkung ist mit dem Enzymsystem nach Stand der Technik systembedingt nicht erreichbar.

Es wurde nun völlig überraschenderweise gefunden, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System (ECS) durch eine geeignete Auswahl der Komponenten die Effizienz der anderen enzymatischen Deinksysteme v.a. mit Oxidoreduktasen und bei ligninhaltigem Deinkstoff übertrifft und v.a. den Vorteil der Bleichwirkung der rein chemischen Systeme zumindest z.T. kompensiert, d.h. es kann ein System zur Verfügung gestellt werden,



daß die Möglichkeit des umweltfreundlichen Deinkens bei neutralem pH-Wert, dadurch bessere Nachbleichbarkeit, bessere Stoffeigenschaften etc. bei ähnlich guter Performance, wie sie rein chemische Systeme zeigen, bieten kann, d.h.

die obige Aufgabe wird dadurch gelöst, indem ein erfindungsmäßiges Enzym-Komponenten-System (ECS) zur Verfügung gestellt wird, welches eine oder mehrere Lipasen, bevorzugt aus der Gruppe der Triacylglycerinlipasen (3.1.1.3) oder eine oder mehrere Amidasen, bevorzugt aus der Gruppe der Amidasen (3.5.1.4) (**Systemkomponente 1**), enthält, welche aus einer oder mehreren vorhandenen Fettsäuren (bevorzugt sind  $C_6$  bis  $C_{26}$  -, besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$  - Fettsäuren) (**Systemkomponente 2**), sowie unter Vorhandensein von Oxidationsmitteln wie Peroxiden, bevorzugt  $H_2O_2$  (**Systemkomponente 3**) über die Bildung von Persäuren aus als weitere Komponente vorhandenen Ketonen (**Systemkomponente 4**) z.B. Dioxirane produzieren können.

kann auch die oben erwähnte Zugabe der speziellen Substanzen, meistens phenolischer Natur und insbesondere mit mehreren Hydroxylgruppen, die auch bei der enzymatischen Abwasserbehandlung und generellen Polymerisationsreaktionen wie bei der Erzeugung von Binder/Kleber aus Lignin oder ligninenthaltenden Stoffen v.a. zur Herstellung von Holzverbundstoffen als Polymerisationskatalysatoren Verwendung finden können, eine weitere Verbesserung der Druckfarbablösung bewirken.

Solche Verbindungen sind z.B.:

Alizarin, 5-Amino-2-hydroxy-benzoesäure, 3-Aminophenol, Brenzkatechin, 2,2-Bis-(4-hydroxyphenyl)-propan, Bis-(4-hydroxyphenyl)-methan, Chinalizarin, 4-Chlor-1-naphthol, Coniferylalkohol, 2,4-Diaminophenoldihydrochlorid, 3,5-Dichlor-4-hydroxyanilin, 1,4-Iroxyanthrachinon, 2,2-Dihydroxybiphenyl, 4,4-Dihydroxybiphenyl, 2,3-Hydroxynaphthalin, 2,6-Diisopropylphenol, 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzhydrazin, 2,5-Di-tert.-butyl-hydrochinon, 2,6-Di-tert.-butyl-4-methylphenol, 4-Hydroxybiphenyl, 2-Hydroxydiphenyl-methan, 2-(2-Hydroxyphenyl)-benzothiazol, 5-Indanol, 2-Isopropoxyphenol, 4-Isopropyl-3-methylphenol, 5-Isopropyl-2-methylphenol, 4-Isopropylphenol, Laurylgallat, 2-Naphthol, 4-Nonylphenol, 3-(Pentadecyl)-phenol, 2-Propylphenol, 4-Propylphenol, Purpurin, Pyrogallol, 4-(1,1,3,3-Tetra-methylbutyl)-phenyl, 1,2,4-Trihydroxybenzol, 2,4,6-Trimethylphenol, 2,3,5-Trimethylphenol, 2,3,6-Trimethylphenol, 3,4,5-Trimethylphenol, 6,7-Dihydroxy-4-methylcumarin, 2-(2-Hydroxyethoxy)-benzaldehyd, 1-Naphthol, Nordihydroguaiätersäure, Octylgallat, Silibinin, 3,4,6-Trihydroxybenzoesäure-octylester, 2,4,6-Tri-tert.-butylphenol, 2,4-Di-tert.-butylphenol, 2,6-Dichlorphenolindophenol,

Ethoxyquin, 1-Aminoanthraquinon, 2-Amino-5-chlorobenzophenon, 4-Aminodiphenyl-amin, 7-Amino-4-hydroxy-2-naphthalensulfonsäure, 2-(4-Aminophenyl)-6-methylbenzothiazol, Benzanthron, Trioctyltrimellitat, trans-Chalcon, Bis-(4-amino-phenyl)-amin-sulfat, 2,2'-Ethylidenbis-(4,6-di-tert.-butylphenol), 2,2-Bis-(2,6-dibrom-4-(2-hydroxyethoxyphenyl)-propan, Bis-(3,5-di-tert.-butyl-4-hydroxyphenyl)-methan, 2,2-Bis-(3,5-dichlor-4-hydroxyphenyl)-propan, Bismarck Brown Y, 1-Bromonaphthalen, 4-Butylanilin, 2-tert.-butyl-5-methylphenol, 1-Chloroanthrachinon, 2-Chloroanthrachinon, Triallyl-1,3,5-benzoltricarboxylat, 1,1-Tris-(hydroxymethyl)-propan-trimethacrylat, Pentaerythrityl-triacrylat, 1,2,4-Trivinylcyclohexan, trans,cis-Cycloododeca-1,5,9-trien, Pentaerythritol-tetrabenzoat, 4,4'-Methylenbis-(2,6-di-tert.-butylphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dichlorophenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dibromphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2-(2,6-dibrom-phenoxy)ethanol, 2,2'Etylidenbis-4,6-di-tert.-butyl-phenol), 3-tert-Butyl-4-hydroxy-5-1-phenyl, 5-tert-Butyl-4-hydroxy-2-methyl-phenyl, Syringaldazin, 4,4'-Dimethoxy-triphenylmethan, Di-sec. Butylphenol.

Weiterhin besonders bevorzugt sind Stoffe, die mehrere Hydroxylgruppen besitzen wie: Ellagsäure, Gallussäure, Gallein, Gallangin, Myo-Inositol, Morin, Nitranilsäure, Phenolphthalein, Purpurin, Purpurogallin, Quinizarin, Chrysazin, Quercitin, Quinhydron, Chloranilsäure, Carmin, Rhodizonsäure, Croconsäure, Melliticsäure, Hematoxilin, 9-Phenyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, 9-Methyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, Tetrahydroxy-p-benzochinon, 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenon, Pyrogallol Red, 1-Nitrophloroglucinol, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinon, Hexaoxocyclohexanoctahydrat, 5,7-Dihydroxyflavanon, 3',4'-Dihydroxy-flavanon, Glyoxalhydrat, 1,3,5-Tris(2-Hydroxyethyl)-isocyanursäure, Chinalizarin, 2,4,5-Trihydroxybenzamin.

#### **V) Einsatz des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) als Oxidationssystem in der organischen Synthese**

In den letzten Jahren wurden verstärkt Enzyme auch für chemische Umsetzungen in der organischen Synthese verwendet.

In: Preperative Biotransformations, (Whole Cell and Isolated Enzymes in Organic Synthesis, S.M. Roberts; K. Wiggins; G.Casy, J.Wiley & Sons Ltd. 1992/93;

Organic Synthesis With Oxidative Enzymes, H.L. Holland; VCH, 1992;

Biotransformation in Organic Chemistry, K.Faber; Springer Verlag, 1992

sind einige Beispiele zusammengestellt, die eine Auswahl von oxidativen Reaktionen

zeigen, die mit enzymatischen Systemen durchgeführt werden können:

### 1) Hydroxylierungsreaktionen

- a) Synthese von Alkoholen
- b) Hydroxylierung von Steroiden
- c) Hydroxylierung von Terpenen
- d) Hydroxylierung von Benzolen
- e) Hydroxylierung von Alkanen
- f) Hydroxylierung von aromatischen Verbindungen
- g) Hydroxylierung von Doppelbindungen
- h) Hydroxylierung von unaktivierten Methylgruppen
- i) Dihydroxylierung von aromatischen Verbindungen

### 2) Oxidation von ungesättigten Aliphaten

- a) Herstellung von Epoxiden
- b) Herstellung von Verbindungen über Epoxierung
- c) Herstellung von Arenoxiden
- Herstellung von Phenolen
- Herstellung von *cis* Dihydrodiolen

### 3) Baeyer-Villiger Oxidationen

- a) Baeyer-Villiger Conversion von Steroiden

### 4) Oxidation von Heterocyclen

- a) Transformation von organischen Sulfiden
- b) Oxidation von Schwefelverbindungen
- c) Oxidation von Stickstoffverbindungen (Bildung von N-Oxiden etc.)
- d) Oxidation von anderen Heteroatomen

### 5) Kohlenstoff-Kohlenstoff Dehydrogenierungen

- a) Dehydrogenierung von Steroiden

### Andere Oxidationsreaktionen

- Oxidation von Alkoholen und Aldehyden
- Oxidation von aromatischen Methylgruppen zu Aldehyden
- c) Oxidative Kupplung von Phenolen
- d) Oxidativer Abbau von Alkylketten ( $\beta$ -Oxidation etc.)
- e) Bildung von Peroxiden oder Peroxyverbindungen
- f) Initiierung von Radikalkettenreaktionen

Auch hier wurde völlig überraschenderweise gefunden, daß man mit Hilfe des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System (ECS) eine Vielzahl von Oxidationsreaktionen aus der oben gezeigten beispielhaften Aufzählung ausführen kann, d.h.

die obige Aufgabe wird dadurch gelöst, indem ein erfindungsmäßiges Enzym-Komponenten-System (ECS) zur Verfügung gestellt wird, welches eine oder mehrere Lipasen, bevorzugt aus der Gruppe der Triacylglycerinlipasen (3.1.1.3) oder eine oder mehrere Amidasen, bevorzugt

aus der Gruppe der Amidasen (3.5.1.4) (**Systemkomponente 1**), enthält, welche aus einer oder mehreren vorhandenen Fettsäuren (bevorzugt sind  $C_6$  bis  $C_{26}$  -, besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$  - Fettsäuren) (**Systemkomponente 2**), sowie unter Vorhandensein von Oxidationsmitteln wie Peroxiden, bevorzugt  $H_2O_2$  (**Systemkomponente 3**) über die Bildung von Persäuren aus als weitere Komponente vorhandenen Ketonen (**Systemkomponente 4**) z.B. Dioxirane produzieren können.

Die in den Beispielen nicht aufgeführten Reaktionen beschränken nicht die Einsetzbarkeit des Systems.

#### **VI) Einsatz des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System (ECS) bei der enzymatischen Kohleverflüssigung**

In diesem Gebiet kann man von folgendem Stand der Technik ausgehen:

Aufgeführte Untersuchungen zeigen die prinzipielle Möglichkeit, Braun- oder Steinkohle mit Hilfe von in vivo Behandlung mit z.B. Weißfäulepilzen wie Phanerochaete chrysosporium anzugreifen und zu verflüssigen (Inkubationszeit mehrere Wochen/ Bioengineering 4.92.8 Jg.).

Die mögliche Struktur von Steinkohle zeigt ein dreidimensionales Netzwerk von polycyclischen, aromatischen Ringsystemen mit einer „gewissen“ Ähnlichkeit zu Ligninstrukturen.

Als Cofaktor neben den lignolytischen Enzymen nimmt man Chelatsubstanzen (Siderophoren, wie Ammoniumoxalat) und Biotenside an.

- 1) Bisher sind nur wirkungsvolle Kohleverflüssigungssysteme als in vivo Systeme bekannt, (mit ligninabbauenden Organismen v.a. Weißfäulepilzen), bzw. Systeme mit Oxidoreduktasen plus Mediatoren (Laccase-Mediator-System WO 94/29510; WO 96/ 18770).
- 2) Es ist bewiesen, daß grundsätzlich Weißfäulepilze, die in der Lage sind, in vivo Lignin abzubauen, auch in Kultur Kohle verflüssigen können.
- 3) Kohle: Braun- wie Steinkohle sind aus Holz durch chemisch/physikalische „Einwirkungen“ entstanden, haben daher zumindest ähnliche chemische Strukturen, wie sie auch im Lignin vorkommen.
- 4) Bei der Verflüssigung von Kohle durch Weißfäulepilze wird zum einen eine Alkalisierung des pH-Wertes während des Wachstums „auf Kohle“ festgestellt, zum anderen eine Ausscheidung von siderophoren-ähnlichen Chelatbildnern, d.h. bekanntermaßen Stoffe, die eine Verflüssigung von Kohle positiv beeinflussen können.

Hauptgrund für eine ökonomisch sinnvolle technische Umsetzung der Kohleverflüssigung ist die Nachfrage der Industrie nach flüssigen alternativen Energieträgern v.a. unter dem Zukunftsgesichtspunkt immer geringer werdender Mengen an anderen fossilen Energieträgern wie Öl und Gas bei gleichzeitig zunehmendem Bedarf an Energie, wobei andere Alternativen wie Kernverschmelzung u.a. noch nicht zur Verfügung stehen werden.

Es wurde auch hier völlig überraschenderweise gefunden, daß mit Hilfe des erfindungsmäßigen Verfahrens (Enzym-Komponenten-System, ECS) eine Verflüssigung von z.B. Braunkohle mit besserer Performance als mit den herkömmlichen enzymatischen Oxidoreduktasesystemen möglich ist, d.h.

die obige Aufgabe wird dadurch gelöst, indem ein erfindungsmäßiges Enzym-Komponenten-System (ECS) zur Verfügung gestellt wird, welches eine oder mehrere Lipasen, bevorzugt aus der Gruppe der Triacylglycerinlipasen (3.1.1.3) oder eine oder mehrere Amidasen, bevorzugt aus der Gruppe der Amidasen (3.5.1.4) (**Systemkomponente 1**), enthält, welche aus einer oder mehreren vorhandenen Fettsäuren (bevorzugt sind  $C_6$  bis  $C_{26}$  -, besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$  - Fettsäuren) (**Systemkomponente 2**), sowie unter Vorhandensein von Oxidationsmitteln wie Peroxiden, bevorzugt  $H_2O_2$  (**Systemkomponente 3**) über die Bildung von Persäuren aus als weitere Komponente vorhandenen Ketonen (**Systemkomponente 4**) z.B. Dioxirane produzieren können.

## **VII) Einsatz des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) als Bleichmittel in Waschmitteln**

Insbesondere im Niedertemperaturbereich sind die herkömmlichen Bleichsysteme in Kaltwaschmitteln unbefriedigend. Unterhalb von  $60^\circ C$  Wascht Temperatur muß das Standardbleichmittel  $H_2O_2$ /Natriumperborat/ Natriumpercarbonat durch Zusatz von chemischen Bleichaktivatoren wie TAED und SNOBS aktiviert werden. Ferner wird nach besser biologisch abbaubaren, biokompatiblen und niedrig dosierbaren Bleichsystemen für die Niedrigtemperaturwäsche gesucht. Während für Eiweiß-Stärke- und Fettlösung sowie für die Faserbehandlung im Waschvorgang bereits Enzyme im technischen Einsatz sind, steht für die Waschmittelbleiche bisher kein enzymatisches Prinzip zur Verfügung.

In der WO 1/05839 wird der Einsatz verschiedener oxidativ wirkender Enzyme (Oxidasen und Peroxidasen) zur Verhinderung des „Dye Transfers“ beschrieben. Peroxidasen sind

bekanntermaßen in der Lage, verschiedene Pigmente (3-Hydroxyflavon and Betain durch Meerrettichperoxidase, Carotin durch Peroxidase) zu „entfärben“. Die genannte Patentanmeldung beschreibt die Entfärbung (auch „bleaching“ genannt) von aus der Wäsche abgelösten, in der Flotte vorliegenden Textilfarbstoffen (Umwandlung eines gefärbten Substrates in einen ungefärbten, oxidierten Stoff). Dabei soll das Enzym gegenüber z.B. Hypochlorit, das auch den Farbstoff auf oder in dem Gewebe angreift, den Vorteil haben, nur gelöst vorliegenden Farbstoff zu entfärben, wobei Wasserstoffperoxid oder eine entsprechende Vorstufe oder in situ generiertes Wasserstoffperoxid an der Katalyse der Entfärbung beteiligt sind. Die Enzymreaktion kann teilweise durch Zugabe von zusätzlichem oxidierbarem Enzymsubstrat, z.B. Metallionen wie  $Mn^{++}$ , Halogenidionen wie  $Cl^-$  oder  $Br^-$  oder organischen Phenolen, wie p-Hydroxyzimtsäure und 2,4- Dichlorphenol gesteigert werden. Hierbei wird die Bildung von kurzlebigen Radikalen oder von anderen oxidierten Zuständen des zugesetzten Substrats postuliert, die für die Bleiche oder andere Modifikation der gefärbten Substanz verantwortlich sind.

In der US 4 077 6768 wird die Verwendung von „iron porphin“, „haemin chlorid“ oder „iron phthalocyanine“ oder Derivaten zusammen mit Wasserstoffperoxid zur Verhinderung des „Dye Transfers“ beschrieben. Diese Stoffe werden aber bei einem Überschuß an Peroxid schnell zerstört weshalb die Wasserstoffperoxid-Bildung kontrolliert ablaufen muß.

Aus WO/126119, WO 94/12620 und WO 94/112621 sind Verfahren bekannt, bei welchen die Aktivität der Peroxidase mittels sogenannter Enhancer-Substanzen gefördert werden. Solche Enhancer-Substanzen werden in WO 94/12620 anhand ihrer Halbwertslebensdauer charakterisiert. Gemäß WO 94/12621 sind Enhancer-Substanzen durch die Formel  $A=N-N=B$  gekennzeichnet, wobei A und B jeweils definierte cyclische Reste sind. Gemäß WO 94/12620 sind Enhancer-Substanzen organische Chemikalien, die mindestens zwei aromatische Ringe enthalten, von denen zumindestens einer mit jeweils definierten Resten substituiert ist.

Alle drei Anmeldungen betreffen „dye transfer inhibition“ und den Einsatz der jeweiligen Enhancer-Substanzen zusammen mit Peroxidasen als Detergenz-Additiv oder Detergenz-Zusammensetzung im Waschmittelbereich. Die Kombination dieser Enhancer-Substanzen sind auf Peroxidasen beschränkt. Auch aus der WO 92/18687 ist der Einsatz von Gemischen enthaltend Peroxidasen bekannt. Ein spezielles System aus Oxidasen und hierfür geeigneten Substraten sowie Wasserstoffperoxid wird in der DE-OS 42 31 761 beschrieben. Die DE-OS 19 18 729 betrifft ein weiteres spezielles Waschmittelsystem, das aus Glucose und Glucoseoxidase oder aus Stärke,

Amyloglucosidase und Glucoseoxidase (GOD), sowie einem Zusatz aus Hydroxylamin oder Hydroxylaminverbindungen besteht, wobei das Hydroxylamin oder dessen Derivate zur Hemmung der in GOD häufig vorkommender Katalase dient und in keinsten Weise als Mediatorzusatz beschrieben wurde.

Die PCT/EP/94/01967 beinhaltet schließlich ein Mehrkomponentenbleichsystem zur Verwendung mit waschaktiven Substanzen bestehend aus Oxdationskatalysatoren und Oxidationsmitteln sowie aliphatischen, cycloaliphatischen, heterocyclischen oder aromatischen NO-, NOH- oder H-NR-OH-haltigen Verbindungen.

Nachteilig bei allen bisher bekannten „enzymatisch verstärkten“ Waschmittel-Bleich- Systemen ist, daß die Reinigungs- und Bleichwirkung immer noch nicht zufriedenstellend ist, bzw. die torsi-substanzen z.B. in PCT/EP94/01967 in zu großer Menge zugegeben werden müssen und somit umweltmäßig und ökonomisch Probleme auftreten können.

Es wurde nun völlig überraschend gefunden, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System (ECS) die Performance der oben genannten Oxidoreduktase-Mediator-Systeme übertrifft und die erwähnten Nachteile des Standes der Technik nicht aufweist, d.h.

die obige Aufgabe wird dadurch gelöst, indem ein erfindungsmäßiges Enzym-Komponenten-System (ECS) zur Verfügung gestellt wird, welches eine oder mehrere Lipasen, bevorzugt aus der Gruppe der Triacylglycerinlipasen (3.1.1.3) oder eine oder mehrere Amidasen, bevorzugt aus der Gruppe der Amidasen (3.5.1.4) (**Systemkomponente 1**), enthält, welche aus einer oder mehreren vorhandenen Fettsäuren (bevorzugt sind  $C_6$  bis  $C_{26}$  -, besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$  - Fettsäuren) (**Systemkomponente 2**), sowie unter Vorhandensein von Oxidationsmitteln wie Peroxiden, bevorzugt  $H_2O_2$  (**Systemkomponente 3**) über die Bildung von Persäuren aus als weitere Komponente vorhandenen Ketonen (**Systemkomponente 4**) z.B. Dioxirane produzieren können.

#### **VIII) Einsatz des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems bei der Bleiche und/oder Entfärbung von Textilgeweben**

Enzyme werden heute in steigenden Mengen und für verschiedene Applikationen in der Textilindustrie eingesetzt.

Zum Beispiel spielt der Einsatz von Amylasen beim „Desizing Prozeß“ eine große Rolle, wodurch der Einsatz von starken Säuren, Laugen oder Oxidationsmitteln verhindert werden kann.

Ebenso werden Cellulasen für das sogenannte Bio-polishing wie auch beim sogenannten Bio-stoning eingesetzt, einem Verfahren, das meistens zusammen mit dem konventionellen Prozeß des Stone-washings mit Bimssteinen beim Behandeln von Denim-Jeansstoffen zur Entfernung des Indigofarbstoffes Anwendung findet.

Weiterhin werden neuerdings Oxidoreduktasen, hauptsächlich Laccasen, aber auch Peroxidasen zusammen mit Enhancer-Substanzen, wie sie aus der entsprechenden Patentanmeldung WO 96/ bekannt sind, für zwei Applikationsformen bei der Behandlung von celluloseenthaltenden Geweben wie Baumwolle, Viskose, Rayon, (Kunstseide) Ramie, Leinen, Tencel, Seide oder Mischungen dieser Gewebe oder Mischungen dieser Gewebe mit Synthefasern wie z.B. Mischungen von Baumwolle und Spandex (Stretch-Denim), hauptsächlich aber Denimstoffen (hauptsächlich Jeansware) eingesetzt:

Zum einen kann das System (Oxidoreduktasen + Enhancersubstanzen) zur Bleiche von Denim anstatt der üblichen Hypochloritbleiche eingesetzt werden, wobei diese enzymatische Behandlung nur zu einem teilweisen Ersatz von Hypochlorit führt, da das gewünschte Bleichergebnis nicht erreicht werden kann.

Zum anderen kann das System zusammen mit Cellulase beim Stone-washing anstelle der üblichen mechanischen Behandlung durch Bimssteine eingesetzt werden, was die Performance von „Nur-Cellulase-Behandlung“ erheblich verbessert.

Ein Hauptvorteil der z.B. Laccase-Enhancerbehandlung (Bleiche) liegt darin, daß man Fashion looks erzielen kann, die eine übliche Hypochlorit-Bleiche nicht ermöglicht.

Dabei ist es z.B. möglich (durch die hohe Spezifität des Systems) bei Mischfarbensystemen wie z.B. Indigo- und Sulfur dye nur den Indigofarbstoff zu entfärben, während der Sulfur dye nicht oxidiert wird. Dies führt zu einem Grauton in der Färbung des Gewebes, der oftmals erwünscht ist.

Als zusätzlicher Vorteil ist zu sehen, daß die enzymatische Behandlung wesentlich schonender abläuft als die Bleiche mit Hypochlorit, was zu geringeren Faserschädigungen führt.



Beim Stone-wash-Prozess ist v.a. der ökologische Effekt von Bedeutung (auch neben der geringeren Faserschädigung durch die Enzyme), wenn man z.B. bedenkt, daß pro kg Jeans-Denim ca. 1 kg Steinschlamm durch diesen rein mechanischen Prozeß entsteht.

Die normalerweise bei Jeans-Denim benutzten Farbstoffe sind VAT Farbstoffe wie Indigo oder Indigoabkömmlinge wie z.B. Thioindigo, aber auch sogenannte Sulfur dyes.

Wie im Stand der Technik dargelegt, besteht in der Textilindustrie, hauptsächlich bei gefärbten Geweben (wie. z. B. Jeans-Denim) ein großer Bedarf an alternativen Bleichverfahren (zur konventionellen Hypochloritbleiche) zur Erzielung des sogenannten „bleached looks“ nicht zuletzt wegen der auch hier bestehenden Umweltproblematik.

Die oben beschriebene Verfahren mit Laccasen/Peroxidasen + Enhancersubstanzen hat den erheblichen Nachteil, die durch die Färbung der Enhancerkomponente (langlebige Radikale) hervorgerufenen „Verbräunung“ des Gewebes.

Es wurde nun völlig überraschend gefunden, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System (ECS) die Performance der bekannten Oxidoreduktase-Systeme übertrifft und die oben beschriebenen Nachteile des Stand der Technik nicht aufweist, d.h.

die vorliegende Erfindung zeigt die Nachteile der konventionellen Prozesse: Stone- washing / Bleiche nach Stone-washing oder generelle Bleiche von gefärbten und/oder ungefärbten Textilgeweben ---> v.a. Umweltproblematik und Faserschädigungen und auch die Nachteile der bekannten Oxidoreduktase/Enhancer-Systeme, die hier v.a. in einer geringen Performance und gewünschten Farbeffekten wie „Bräunungsreaktionen“ bestehen, nicht, d.h.

die obige Aufgabe wird dadurch gelöst, indem ein erfindungsmäßiges Enzym-Komponenten-System (ECS) zur Verfügung gestellt wird, welches eine oder mehrere Lipasen, bevorzugt aus der Gruppe der Triacylglycerinlipasen (3.1.1.3) oder eine oder mehrere Amidasen, bevorzugt aus der Gruppe der Amidasen (3.5.1.4) (**Systemkomponente 1**), enthält, welche aus einer oder mehreren vorhandenen Fettsäuren (bevorzugt sind  $C_6$  bis  $C_{26}$  -, besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$  - Fettsäuren) (**Systemkomponente 2**), sowie unter Vorhandensein von Oxidationsmitteln wie Peroxiden, bevorzugt  $H_2O_2$  (**Systemkomponente 3**) über die Bildung von Persäuren aus als weitere Komponente vorhandenen Ketonen (**Systemkomponente 4**) z.B. Dioxirane produzieren können.

**Beschreibung der Sytemkomponenten des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) im einzelnen:**

**Systemkomponente 1 (Lipasen u.a. Enzyme) des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS)**

Bevorzugt sind Enzyme der Gruppe 3 (Hydrolasen) 3.1, 3.1.1, 3.1.2, 3.1.3, 3.1.4 und 3.1.7 gemäß Internationaler Enzym-Nomenklature: Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (Enzyme Nomenclature, Academic Press, Inc., 1992, S. 306 -337).

zugt sind Enzyme, **die auf Esterbindungen wirken (3.1)**, insbesondere diejenigen, die auf Carboxylester wirken (3.1.1):

**A) Carboxylester-Hydrolasen (3.1.1)**

- 3.1.1.1 Carboxylesterase
- 3.1.1.2 Arylesterase
- 3.1.1.3 Triacylglycerinlipase
- 3.1.1.4 Phospholipase A<sub>2</sub>
- 3.1.1.5 Lysophospholipase
- 3.1.1.6 Acetylesterase
- 3.1.1.7 Acetylchlorinesterase
- 3.1.1.8 Cholinesterase
- 3.1.1.10 Tropinesterase
- 3.1.1.11 Pectinesterase
- 3.1.1.13 Sterolesterase
- 3.1.1.14 Chlorophyllase
- 3.1.1.15 L-Arabinonolactonase
- 3.1.1.17 Gluconolactonase
- 3.1.1.19 Uronolactonase
- 3.1.1.20 Tannase
- 3.1.1.21 Retynil-palmitate esterase
- 3.1.1.22 Hydroxybutyrate-dimer hydrolase
- 3.1.1.23 Acylglycerinlipase
- 3.1.1.24 3-Oxoadipate- enol-Lactonase
- 3.1.1.25 1,4-Lactonase
- 3.1.1.26 Galactolipase
- 3.1.1.27 4-Pyrodoxolactonase
- 3.1.1.28 Acylcarnitine hydrolase
- 3.1.1.30 D-Arabinonolactonase
- 3.1.1.31 6-Phospogluconolactonase
- 3.1.1.32 Phopholipase A<sub>1</sub>

- 3.1.1.33 6-Acetylglucose deacetylase
- 3.1.1.34 Lipoproteinlipase
- 3.1.1.35 Dihydrocoumarin hydrolase
- 3.1.1.36 Limonin-D-ring-lactonase
- 3.1.1.37 Steroid-lactonase
- 3.1.1.38 Triacetate-lactonase
- 3.1.1.39 Actinomycin lactonase
- 3.1.1.40 Orsellinate-depside hydrolase
- 3.1.1.41 Cephalosporin-C deacetylase
- 3.1.1.42 Chlorogenate hydrolase
- 3.1.1.43  $\alpha$ -Amino-acid esterase
- 3.1.1.44 4-Methyloxaloacetate esterase
- 3.1.1.45 Carboxymethylenebutenolidase
- 3.1.1.46 Deoxylimonate A-ring-lactonase
- 3.1.1.47 1-Alkyl-2-acetyl-glycerophosphocholine esterase
- 3.1.1.48 Fusarinine-C ornithinesterase
- 3.1.1.49 Sinapine esterase
- 3.1.1.50 Wax-ester hydrolase
- 3.1.1.51 Phorbol-diester hydrolase
- 3.1.1.52 Phosphatidylinositol deacylase
- 3.1.1.53 Sialate *O*-acetyl-esterase
- 3.1.1.54 Acetoxybutynylbithiophene deacetylase
- 3.1.1.55 Acetylsalicylate deacetylase
- 3.1.1.56 Methylumbelliferyl-acetate deacetylase
- 3.1.1.57 2-Pyrone-4,6-dicarboxylate lactonase
- 3.1.1.58 *N*-Acetylgalactosaminoglycan deacetylase
- 3.1.1.59 Juvenile-hormone esterase
- 3.1.1.60 Bis (2-ethylhexyl)phthalate esterase
- 3.1.1.61 Protein-glutamate methylesterase
- 3.1.1.63 11-*cis*-Retenyl-palmitate hydrolase
- 3.1.1.64 *all-trans*-Retenyl-palmitate hydrolase
- 3.1.1.65 L-Rhamnono-1,4-lactonase
- 3.1.1.66 5- (3,4-Diacetoxybut-)ynyl 2,2'-bithiophene deacetylase
- 3.1.1.67 Fatty-acid-ethyl-ester synthase
- 3.1.1.68 Xylono-1,4-lactonase
- 3.1.1.69 *N*-Acetylglucosaminylphosphatidylinositol deacetylase
- 3.1.1.70 Cetaxate benzylesterase

ebenso bevorzugt sind:

#### **B) Thiolesterhydrolasen (3.1.2)**

- 3.1.2.6 Hydroxyacylglutathione hydrolase
- 3.1.2.7 Glutathione thiolesterase
- 3.1.2.12 *S*-Formylglutathione hydrolase
- 3.1.2.13 *S*-Succinylglutathione hydrolase
- 3.1.2.14 Oleoyl-(acyl-carrier-protein) hydrolase
- 3.1.2.15 Ubiquitin thiolesterase
- 3.1.2.16 (Citrate-(*pro*-3*S*)-lyase) thiolesterase

Ebenso bevorzugt sind:

### C) Phosphor-Monester-Hydrolasen (Phosphatasen) (3.1.3)

- 3.1.3.1 Alkaline phosphatase
- 3.1.3.2 Acid phosphatase
- 3.1.3.3 Phosphoserine phosphatase
- 3.1.3.4 Phosphatidate phosphatase
- 3.1.3.8 3-Phytase
- 3.1.3.9 Glucose-6-phosphatase
- 3.1.3.10 Glucose-1-phosphatase
- 3.1.3.11 Fructose-bisphosphatase
- 3.1.3.12 Trehalose-phosphatase
- 3.1.3.13 Bisphosphoglycerate phosphatase
- 3.1.3.14 Methylphosphothioglycerate phosphatase
- 3.1.3.15 Histidinol phosphatase
- 3.1.3.16 Phosphoprotein phosphatase
- 3.1.3.17 (Phosphorylase) phosphatase
- 3.1.3.18 Phosphoglycolate phosphatase
- 3.1.3.19 Glycerol-2-phosphatase
- 3.1.3.20 Phosphoglycerate phosphatase
- 3.1.3.21 Glycerol-1-phosphatase
- 3.1.3.22 Mannitol-1-phosphatase
- 3.1.3.23 Sugar phosphatase
- 3.1.3.24 Sucrose phosphatase
- 3.1.3.25 *myo*-Inositol-1 (or 4) -monophosphatase
- 3.1.3.26 6-Phytase
- 3.1.3.27 Phosphatidylglycerophosphatase
- 3.1.3.36 Phosphatidylinositol-bisphosphatase
- 3.1.3.37 Sedoheptulose-bisphosphatase
- 3.1.3.38 3-Phosphoglycerate phosphatase
- 3.1.3.39 Streptomycin-6-phosphatase
- 3.1.3.40 Guanidinodeoxy-*scyllo*-inositol-4-phosphatase
- 3.1.3.41 4-Nitrophenylphosphatasen
- 3.1.3.42 (Glycogen-synthase-D)phosphatase
- 3.1.3.43 (Pyruvate dehydrogenase (lipoamide) )-phosphatase
- 3.1.3.45 3-Deoxy-*manno*-octulosonate-8-phosphatase
- 3.1.3.46 Fructose-2,6-bisphosphate 2 phosphatase
- 3.1.3.48 Protein-tyrosine-phosphatase
- 3.1.3.49 (Pyruvate kinase)-phosphatase
- 3.1.3.50 Sorbitol-6-phosphatase
- 3.1.3.51 Dolichyl-phosphatase
- 3.1.3.52 (3-Methyl-2-oxobutanoate dehydrogenase (lipoamide))-phosphatase
- 3.1.3.53 Myosin-light-chain-phosphatase
- 3.1.3.54 Fructose-2,6-bisphosphate 6-phosphatase
- 3.1.3.55 Caldesmon-phosphatase
- 3.1.3.56 Inositol-1,4,5-trisphosphate 5 phosphatase
- 3.1.3.57 Inositol-1,4-bisphosphate 1-phosphatase
- 3.1.3.58 Sugar-terminal-phosphatase
- 3.1.3.59 Alkylacetylgllycerophosphatase
- 3.1.3.60 Phosphoenolpyruvate phosphatase

- 3.1.3.61 Inositol-1,4,5-trisphosphate 1- phosphatase
- 3.1.3.62 Inositol-1,3,4,5- tetrakisphosphate 3-phosphatase
- 3.1.3.63 2-Carboxy-D-arabinitol-1-phosphatase
- 3.1.3.64 Phosphatidylinositol-3-phosphatase
- 3.1.3.65 Inositol-1,3-bisphosphate 3-phosphatase
- 3.1.3.66 Inositol-3,4-bisphosphate 4-phosphatase

Ebenso bevorzugt sind:

#### **D) Phosphorsäure Diester Hydrolasen (3.1.4)**

- 3.1.4.1 Phosphodiesterase I
- 3.1.4.2 Glycerophosphocholine phosphodiesterase
- 3.1.4.3 Phospholipase C
- 3.1.4.4 Phospholipase D
- 3.1.4.10 1-Phosphatidylinositol phosphodiesterase
- 3.1.4.11 1-Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate phosphodiesterase
- 12 Sphingomyelin phosphodiesterase
- 13 Serine-ethanolaminephosphate phosphodiesterase
- 3.1.4.14 (Acyl-carrier-protein) phosphodiesterase
- 3.1.4.36 1,2-Cyclic-inositol-phosphate phosphodiesterase
- 3.1.4.38 Glycerophosphocholine cholinephosphodiesterase
- 3.1.4.39 Alkylglycerophosphoethanolamine phosphodiesterase
- 3.1.4.40 CMP-N-acylneuramate phosphodiesterase
- 3.1.4.41 Sphingomyelin phosphodiesterase D
- 3.1.4.42 Glycerol-1,2-cyclic-phosphate 2-phosphodiesterase
- 3.1.4.43 Glycerophosphoinositol inositolphosphodiesterase
- 3.1.4.44 Glycerophosphoinositol glycerophosphodiesterase
- 3.1.4.45 N-Acetylglucosamine-1-phosphodiesterase
- 3.1.4.46 Glycerophosphodiester phosphodiesterase
- 3.1.4.47 Variant-surface-glycoprotein phospholipase C
- 3.1.4.48 Dolichyl-phosphate-glucose phosphodiesterase
- 3.1.4.49 Dolichyl-phosphate-mannose phosphodiesterase
- 3.1.4.50 Glycoprotein phospholipase D
- 3.1.4.51 Glucose-1-phospho-D-mannosylglycoprotein phosphodiesterase

Ebenso bevorzugt sind:

#### **E) Diphosphorsäure-Monoester-Hydrolasen (3.1.7)**

- 3.1.7.1 Prenyl-pyrophosphatase
- 3.1.7.3 Monoterpenyl-pyrophosphatase

davon ganz besonders bevorzugt sind Enzyme der Gruppe 3.1.1.3, Lipasen  
(Triacylglycerin Lipasen, Triglycerinacylhydrolasen)

aus Organismen wie *Candida antarctica*, *Candida rugosa*, *Candida lipolytica*, *Candida cylindracea*, *Candida spec.*, *Geotrichum candidum*, *Humicola lanuginosa*, *Penicillium cambertii*, *Penicillium roqufortii*, *Aspergillus spec.*, *Mucor javanicus*, *Mucor mehei*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus niveus*, *Rhizopus delamar*, *Rhizopus spec.* *Chromobacterium viscosum*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas spec.*, aus Weizenkeimlingen oder Pankreas (Schwein oder andere Quellen).

**Als weitere Enzyme werden solche, die Kohlenstoff/Stickstoffbindungen (C/N) spalten können (andere als Peptidbindungen), eingesetzt (3.5)**

Zu dieser Subklasse gehören Enzyme, die Amide, Amidine, und andere C/N-Bindungen spalten können. Besonders bevorzugt sind Enzyme der Klasse: 3. 5.1, die auf lineare Amide wirken, der Klasse: 3.5.2, die auf cyclische Amide wirken, der Klasse 3.5.3, die auf lineare Amidine wirken, der Klasse 3.5.4, die auf cyclische Amidine wirken, der Klasse 3.5.5, die auf Nitrile wirken und der Klasse 3.5.99, die auf andere Verbindungen wirken.

Besonders bevorzugt sind die Enzyme der Klasse 3.5.1, die auf lineare Amide wirken, wie:

- 3.5.1.1 Asparaginase
- 3.5.1.2 Glutaminase
- 3.5.1.3  $\omega$ -Amidase
- 3.5.1.4 Amidase
- 3.5.1.6 Urease
- 3.5.1.7  $\beta$ -Ureidopropionase
- 3.5.1.7 Ureidosuccinase
- 3.5.1.8 Formylaspartat Deformylase
- 3.5.1.9 Arylformamidase
- 3.5.1.10 Formyltetrahydrofolat Deformylase
- 11 Penicillin Amidase
- 12 Biotinidase
- 3.5.1.13 Aryl-acylamidase
- 3.5.1.14 Aminoacylase
- 3.5.1.15 Aspartoacylase
- 3.5.1.16 Acetylornithin Deacetylase
- 3.5.1.17 Acyl-Lysin-Deacylase
- 3.5.1.19 Nicotinamidase
- 3.5.1.20 Citrullinase
- 3.5.1.22 Pantothenase
- 3.5.1.30 5-Aminopentanamidase
- 3.5.1.31 Formylmethionin Deformylase
- 3.5.1.32 Hippurate Hydrolase
- 3.5.1.39 Alkylamidase
- 3.5.1.40 Acylagmatin Amidase
- 3.5.1.41 Chitin deacetylase

- 3.5.1.42 Nicotinamid-Nucleotid Amidase
- 3.5.1.49 Formamidase
- 3.5.1.50 Pentanamidase
- 3.5.1.55 Long-chain-fatty-acyl-glutamate Deacylase
- 3.5.1.56 N,N-Dimethylformamidase
- 3.5.1.57 Tryptophanamidase
- 3.5.1.58 N-Benzoyloxycarbonylglycin Hydrolase
- 3.5.1.59 N-Carbamoylsarcosin Amidase
- 3.5.1.72 D-Benzoylarginin-4-Nitroanilid Amidase
- 3.5.1.73 Carnitinamidase
- 3.5.1.75 Urethanase

Ebenso besonders bevorzugt sind Enzyme der Klasse 3.5.2, die auf cyclische Amide wirken, wie:

- 3.5.2.1 Barbiturase
- 3.5.2.2 Dihydropyrimidase
- 3.5.2.3 Dihydroorotase
- 3.5.2.4 Carboxymethylhydantoinase
- 3.5.2.5 Allantoinase
- 3.5.2.6  $\beta$ -Lactamase
- 3.5.2.10 Creatininase

Ebenso besonders bevorzugt sind Enzyme der Klasse 3.5.3, die auf lineare Amidine wirken, wie:

- 3.5.3.1 Arginase
- 3.5.3.3 Creatinase
- 3.5.3.4 Allantoicase
- 3.5.3.6 Arginine Deiminase
- 3.5.3.9 Allantoat Deiminase
- 3.5.3.10 D-Arginase
- 3.5.3.14 Amidinoaspartase
- 3.5.3.15 Protein-arginin Deiminase

Ebenso besonders bevorzugt sind Enzyme der Klasse 3.5.4, die auf cyclische Amidine wirken, wie:

- 3.5.4.8 Aminoimidazolase
- 3.5.4.21 Creatinin Deaminase

Bevorzugt sind auch Enzyme der Klasse 3.5.99, die auf andere Verbindungen wirken,

wie:

3.5.99.1 Riboflavinase

3.5.99.2 Thiaminase

Insbesondere besonders bevorzugt sind Enzyme der Klasse **3.5.5.1 Nitrilase**  
(**3.5.5.2 - 3.5.5.6, andere Nitrilasen**)

Ebenso besonders bevorzugt sind Enzyme der Klasse 3.5.1, hier insbesondere der Klasse  
**3.5.1.4 Amidasen.**

### **Systemkomponente 2 des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS)**

Fettsäuren, die im erfindungsgemäßen Verfahren als Persäurequelle eingesetzt werden,

z.B.:

#### **1) gesättigte Fettsäuren**

|                 |                   |
|-----------------|-------------------|
| Butansäure      | (Buttersäure)     |
| Pentansäure     | (Valeriansäure)   |
| Hexansäure      | (Capronsäure)     |
| Heptansäure     | (Önanthsäure)     |
| Octansäure      | (Caprylsäure)     |
| Nonansäure      | (Pelargonsäure)   |
| Decansäure      | (Caprinsäure)     |
| Undecansäure    |                   |
| Dodecansäure    | (Laurinsäure)     |
| Tridecansäure   |                   |
| Tetradecansäure | (Myristinsäure)   |
| Pentadecansäure |                   |
| Hexadecansäure  | (Palmitinsäure)   |
| Heptadecansäure |                   |
| Octadecansäure  | (Stearinsäure)    |
| Nonadecansäure  |                   |
| Eicosansäure    | (Arachinsäure)    |
| Heneicosansäure |                   |
| Docosansäure    | (Behensäure)      |
| Tricosansäure   |                   |
| Tetracosansäure | (Lignocerinsäure) |
| Pentacosansäure |                   |
| Hexacosansäure  | (Cerotinsäure)    |
| Octacosansäure  |                   |
| Triacotansäure  | (Melissinsäure)   |

#### **2) ungesättigten Fettsäuren**

10-Udecensäure



|                                 |                               |
|---------------------------------|-------------------------------|
| 9c-Dodecensäure                 | (Lauroleinsäure)              |
| 9c-Tetradecensäure              | (Myristoleinsäure)            |
| 9c-Hexadecensäure               | (Palmitoleinsäure)            |
| 6c-Octadecensäure               | (Petroselinsäure)             |
| 6t-Octodecensäure               | (Petroselaidinsäure)          |
| 9c-Octodecensäure               | (Ölsäure)                     |
| 9t-Octodecensäure               | (Elaidinsäure)                |
| 9c,12c-Octadecadiensäure        | (Linolsäure)                  |
| 9t,12t-Octadecadiensäure        | (Linolaidinsäure)             |
| 9c,12c,15c-Octadecatriensäure   | (Linolensäure)                |
| 9t,11t,13t-Octadecatriensäure   | ( $\alpha$ -Eläostearinsäure) |
| 9c,11t,13t-Octadecatriensäure   | ( $\beta$ -Eläostearinsäure)  |
| 9c-Eicosensäure                 | (Gadoleinsäure)               |
| 5,8,11,14-Eicosatetraensäure    | (Arachidonsäure)              |
| 13c-Docosensäure                | (Erucasäure)                  |
| 13t-Docosensäure                | (Brassidinsäure)              |
| 4,8,12,15,19-Docosapentaensäure | (Clupanodonsäure)             |

### **-, mehrfach ungesättigte Fettsäuren**

|                                      |                    |
|--------------------------------------|--------------------|
| 9,12-Octadecadiensäure               | (Linolsäure)       |
| 9,12,15-Octadecatriensäure           | (Linolensäure)     |
| 5,9,12-Octadecatriensäure            |                    |
| 9,11,13-Octadecatriensäure           | (Eläostearinsäure) |
| 9,11,13,15-Octadecatetraensäure      | (Parinarsäure)     |
| 5,11,14-Eicostriensäure              |                    |
| 5,8,11,14-Eicosatetraensäure         | (Arachidonsäure)   |
| 4,8,12,15,18-Eicosapentaensäure      |                    |
| 4,8,12,15,19-Decosapentaensäure      | (Clupanodonsäure)  |
| 4,8,12,15,18,21-Tetracosahexaensäure | (Nisinsäure)       |

Besonders bevorzugt sind die Tetradecensäure (Myristinsäure) und die Dodecensäure (Laurinsäure).

### **Systemkomponente 3 (Oxidationsmittel : Peroxide oder Perverbindungen)** **des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten- Systems (ECS)**

Als Oxidationsmittel werden im erfindungsgemäßen Enzym-Komponenten-System Peroxid ( $H_2O_2$ ), organische Peroxide, und Perverbindungen, wie:

Perborate, Persulphate, Percarbonate, Perphosphate, Percarbamide, Perchlorate u.a. bevorzugt.

Als organische Peroxide werden bevorzugt z.B.:

3-Chlorperoxibenzoessäure, Monoperoxyphthalsäure- Mg-Salz, Di-tert.-butylperoxid,

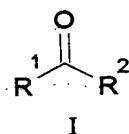
Cumolhydroperoxid, Lauroylperoxid, Chloroperoxybenzoesäure, Dicumylperoxid, Ethymethylketon-peroxid, Benzoylperoxid, Diperoxidodecandionsäure-Na-Salz, u.a.

Ebenso können Kombinationen von auch in Waschmitteln benutzen Beichaktivatoren wie TAED (Tetraacetylenhydriamin), TAGU (Tetraacetylglucuril) und iso-NOBS (Natrium-p-iso-nonanoyloxybenzolsulfonat) u.a. neben der Lipase-katalysierten Persäureherstellung zusammen mit Perverbindungen wie Perborate, Percarbonate etc. als weitere Persäure-Generierungs-Quelle dienen.

Ebenso können die oben genannten Perverbindungen wie auch z.B. Glukose + GOD als  $H_2O_2$ -generierende Systeme, für die entsprechende Lipase- Wirkung Verwendung finden.

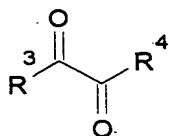
#### nkompente 4 (Ketone) des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System (ECS)

Besonders bevorzugt sind Carbonylverbindungen der allgemeinen Formel I.

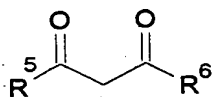


Die Reste  $R^1$  und  $R^2$  können gleich oder ungleich sein und aliphatische oder aromatische Gruppen darstellen. Weiterhin können die Reste  $R^1$  und  $R^2$  einen Ring bilden, der neben Kohlenstoff auch Heteroatome wie Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel enthalten kann.

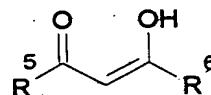
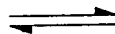
nders bevorzugt sind 1,2- Diketone (Formel II) und 1,3-Diketone (Formel III) bzw. polyketone (Polyketide) sowie die tautomeren Enole (Formel IV),



II



III



IV

wobei die Reste  $R^3$  bis  $R^6$  jeweils wieder gleich oder ungleich sein können und aliphatische oder aromatische Gruppen darstellen können. Weiterhin können die Reste  $R^3$  und  $R^4$  und die Reste  $R^5$  und  $R^6$  einen gemeinsamen Ring bilden, der neben Kohlenstoff auch Heteroatome wie Stickstoff,

Sauerstoff oder Schwefel enthalten kann.

Dabei ist die Möglichkeit der Tautomerisierung bzw. der Ausbildung eines Resonanz-hybrides von besonderer Bedeutung.

Neben allgemeinen Carbonylverbindungen sind besonders bevorzugt Ketone wie allgemein Hydroxyketone,  $\alpha,\beta$  - ungesättigte Ketone, Oxicarbonsäuren, Chinone und Halogenketone. Daraus weiterhin besonders bevorzugt sind:

Aceton, Methylethylketon, Diethylketon, Methyl-n-butylketon, Methyl-isobutylketon, Cyclohexanon, Cyclopentanon, 2-Methylcyclohexanon, 3-Methylcyclohexanon, 4-Methylcyclohexanon, Dihydroxyacetone, Diacetyl (Monohydrazon), Diacetyl (Dihydrazon), Acetophenon, p-Hydroxyacetophenon, 1-Phenylbutan-3-on, Pentan-3-on, Heptan-4-on, Nonan-2-on, Cycloheptanon, Cyclooctanon, Cyclodecanon, Cyclododecanon, Cyclohexanon, Methylcyclohexanon, 3-Methylcyclohexanon, 4-Methylcyclohexanon, Cyclopentanon, 2-Methylcyclopentanon, 3-Methylcyclopentanon, Dimethylketon, Ethylpropylketon, Methylamylketon, Acethylacetone, Pinakolin, Methyl-isopropylketon, Methyl-isoamylketon, Ethylamylketon, Diisopropylketon, Diisobutylketon, Methyl-vinylketon, Methyl-isopropenylketon, Mesityloxid, Isophoron, Hydroxyacetone, Methoxyacetone, 2,3-Pentandion, 2,3-Hexandion, Phenylacetone, Propiophenon, Benzophenon, Benzoin, Benzil, 4,4'-Dimethoxybenzil, 4'-Methoxyacetophenon, 3'-Methoxyacetophenon, O-Ethylbenzoin, (2-Methoxyphenyl)-acetone, (4-Methoxyphenyl)-acetone, Methoxy-2-propanon, Glyoxylsäure, Benzylglyoxylat, Benzylacetone, Benzylmethylketon, Cyclohexylmethylketon, 2-Decanon, Dicyclohexylketon, Diethylketon, Diisopropylketon, 3,3-Dimethyl-2-butanon, Isobutylmethylketon, Isopropylmethylketon, 2-Methyl-3-heptanon, 5-Methyl-3-heptanon, 6-Methyl-5-hepten-2-on, 5-Methyl-2-hexanon, 3-Nonaon, 5-Nonaon, 2-Octanon, 3-Octanon, 2-Undecanon, 1,3-Dichloracetone, 1-Hydroxy-2-butanon, 3-Hydroxy-2-butanon, 4-Hydroxy-4-methyl-2-pentanone, 2-Adamantanone, Anthrone, Bicyclo(3.2.0)hept-2-en-6-on, *cis*-Bicyclo(3.3.0)octan-3,7-dion, (1S)-(-)-Campher, p-Chloranil, Cyclobutanone, Cyclododecanone, 1,3-Cyclohexandion, 1,4-Cyclohexandionmonoethylenketal, Dibenzosuberone, Ethyl-4-oxocyclohexancarboxylat, Fluoren-9-on, 1,3-Indandion, Methylcyclohexanon, Phenylcyclohexanon, 4-Propylcyclohexanon, 1,2,3,4-Tetrahydro-1-naphthalinon, 1,2,3,4-Tetrahydro-2-naphthalinon, 3,3,5-Trimethylcyclohexanon, 3-Acetoxy-2-cyclohexen-1-on, Benzylidenacetone, (R)-(-)-Carvon, (S)-(-)-Carvon, Curcumin, 2-Cyclohexen-1-on, 2,3-Diphenyl-

2-cyclopropen-1-on, 2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-on, Isophoron,  $\alpha$ -Jonon,  $\beta$ -Jonon,  
 3-Methoxy-2-cyclohexen-1-on, 3-Methyl-2-cyclopenten-1-on, 3-Methyl-3-penten-2-on,  
 Methylvinylketon, (R)-(+)-Pulegon, Tetraphenyl-2,4-cyclopentadien-1-on,  
 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexen-1,4-dion, 2-Acetylbenzoesäure, 1-Acetylnaphthalin,  
 2-Acetylnaphthalin, 3'-Aminoacetophenon, 4'-Aminoacetophenon, 4'-Cyclohexylacetophenon,  
 3',4'-Diacetoxyacetophenon, Diacetylbenzol, 2',4'-Dihydroxyacetophenon, 2',5'-Dihydroxy-  
 acetophenon, 2',6'-Dihydroxyacetophenon, 3,4-Dimethoxyacetophenon,  
 2'-Hydroxyacetophenon, 4'-Hydroxyacetophenon, 3'-Methoxyacetophenon, 4'-  
 Methoxyacetophenon, 2'-Methylacetophenon, 4'-Methylacetophenon, 2'-Nitroacetophenon,  
 3'-Nitroacetophenon, 4'-Nitroacetophenon, 4'-Phenylacetophenon, 3',4',5'-  
 Trimethoxyacetophenon, 4'-Aminopropiophenon, Benzoylacetone, Benzoylpropionsäure,  
 Benzylidenacetophenon, Cyclohexylphenylketon, Desoxybenzoin, 4',4'-Dimethoxybenzil, 1,3-  
 -nyl-1,3-propandion, O-Ethylbenzoin, Ethyl-benzoylacetat, Ethyl-(phenylglyoxylat), 4'-  
 Hydroxypropiophenon, 1,3-Indandion, 1-Indanon, Isopropylphenylketon, 6-Methoxy-1,2,3,4-  
 tetrahydro-naphthalin-1-on, Methyl-phenylglyoxylat, Phenylglyoxylonitril, 1-Phenyl-1,2-  
 propandion-2-oxim, Propiophenon, Valerophenon, 2-Acetyl- $\gamma$ -butyrolacton, 2-Acetylpyrrol, 1-  
 Benzylpiperidin-4-on, Dehydracetsäure, 3,4-Dihydro-4,4-dimethyl-2H-pyran-2-on, 1,4-Dihydro-  
 4-pyridinon, N-Ethoxycarbonyl-4-piperidinon, 2-Furylmethylketon, 5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-  
 4H-pyran-4-on, 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyranon, 3-Indolylmethylketon, Isatin, 1-Methyl-4-  
 piperidinon, Methyl-2-pyridylketon, Methyl-3-pyridylketon, Methyl-4-pyridylketon, Methyl-2-  
 thienylketon, Phenyl-2-pyridylketon, Phenyl-4-pyridylketon, Tetrahydrofuran-2,4-dion,  
 Tetrahydro-4H-pyran-4-on, 2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidon, Xanthon, Acenaphthenchinon,  
 Benztraubensäure, (1R)-(-)-Campherchinon, (1S)-(+)-Campherchinon, 3,5-Di-tert-butyl-o-  
 chinon, 1,2-Dihydroxycyclobuten-3,4-dion, Ethyl-(2-amino-4-thiazolyl)-glyoxylat, Ethyl-  
 (phenylglyoxylat), Ethylpyruvat, 2,3-Hexandion, 3,4-Hexandion, 3-Methyl-2-oxo-buttersäure,  
 3-Methyl-2-oxo-valeriansäure, 4-Methyl-2-oxo-valeriansäure, Methyl-phenylglyoxylat,  
 2-Oxobuttersäure, 2,3-Pentandion, 9,10-Phenanthrenchinon, Acetoacetanilid, 2-Acetyl- $\gamma$ -butter-  
 säurelacton, 2-Acetylcyclopentanon, Allyl-acetoacetat, Benzoylacetone, ter-Butylacetoacetat,  
 1,3-Cyclopentandion, Diethyl-3-oxoglutarat, Dimethyl-acetylsuccinat, Dimethyl-3-oxoglutarat,  
 1,3-Diphenyl-1,3-propandion, Ethyl-acetoacetat, Ethyl-benzoylacetat, Ethyl-butyrylacetat, Ethyl-  
 2-oxocyclohexancarboxylat, Ethyl-2-phenylacetoacetat, Methyl-acetoacetat, 2-Methyl-1,3-  
 cyclohexandion, 2-Methyl-1,3-cyclopentandion, Methyl-isobutyrylacetat, Methyl-3-oxopentanoat,

Methylpivaloylacetat, 3-Oxoglutarsäure, Tetrahydrofuran-2,4-dion, 2,2,6,6-Tetramethyl-3,5-  
 heptandion, 3-Benzoylpropionsäure, 1,4-Cyclohexandion, Dimethyl-acetylsuccinat, Ethyllävulinat,  
 2-Aminoanthrachinon, Anthrachinon, p-Benzochinon, 1,4-Dihydroxyanthrachinon,  
 1,8-Dihydroxyanthrachinon, 2-Ethylanthrachinon, Methyl-p-benzochinon, 1,4-Naphthochinon,  
 Tetramethyl-p-benzochinon, 2,2-Dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion, 2-Benzoylbenzoesäure,  
 3-Benzoylpropionsäure, 5,6-Dimethoxyphthalaldehydsäure, Glyoxylsäure, Lävölinsäure,  
 Methyl-(trans-4-oxo-2-pentenoat), Phthalaldehydsäure, Terephthalaldehydsäure,  
 Dibutylmaleinat, Dibuthylsuccinat, Dibutylphthalat, Dicyclohexylphthalat, Diethyl-  
 acetamidomalonat, Diethyladipat, Diethyl-Benzylmalonat, Diethyl-butylmalonat,  
 Diethyl-ethoxymethylen-malonat, Diethylethylmalonat, Diethylfumarat, Diethylglutarat,  
 Diethyl-isopropylidenmalonat, Diethyl-maleinat, Diethylmalonat, Diethyl-methylmalonat,  
 Diethyloxalat, Diethyl-3-oxoglutarat, Diethyl-phenylmalonat, Diethylphthalat, Diethyl-pimelat,  
 Diethyl-sebacat, Diethyl-suberat, Diethyl-succinat, Diisobutylphthalat, Dimethyl-  
 acethylendicarboxylat, Dimethyl-acetylsuccinat, Dimethyladipat, Dimethyl-2-aminoterephthalat,  
 Dimethylfumarat, Dimethylglutaconat, Dimethylglutarat, Dimethylisophthalat,  
 Dimethylmalonat, Dimethyl-methoxymalonat, Dimethyl-(methylen-succinat), Dimethyloxalat,  
 Dimethyl-3-oxo-glutarat, Dimethylphthalat, Dimethylsuccinat, Dimethylterephthalat,  
 Ethylenglycoldiacetat, Ethylenglycoldimethacrylat, Monoethylfumarat, Monoethylmalonat,  
 Monoethyladipat, Monomethylphthalat, Monomethylpimelat, Monomethylterephthalat,  
 1,2-Propylenglycoldiacetat, Triethyl-methantricarboxylat, Trimethyl-1,2,3-propan-  
 tricarboxylat, 3-Acetoxy-2-cyclohexen-1-on, Allyl-acetoacetat, Allyl-(cyanacetat),  
 Benzylacetoacetat, tert-Butylacetoacetat, Butylcyanacetat, Chlorogensäure-Hemihydrat,  
 Cumarin-3-Carbonsäure, Diethyl-ethoxycarbonylmethanphosphonat, Dodecylgallat,  
 Decyl-3,4,5-trihydroxybenzoat, (2,3-Epoxypropyl)-methacrylat, (2-Ethoxyethyl)acetat,  
 Ethyl-(acetamidocyanacetat), Ethylacetoacetat, Ethyl-2-aminobenzoat, Ethyl-(3-aminopyrazol-4-  
 carboxylat), Ethyl-benzoxylacetat, Ethyl-butyrylacetat, Ethyl-cyanacetat, Ethyl-(2-cyan-3-  
 ethoxyacrylat), Ethyl-cyanformiat, Ethyl-2-cyanpropionat, Ethyl-(3,3-diethoxypropionat),  
 Ethyl-1,3-dithian-2-carboxylat, Ethyl-(2-ethoxyacetat), Ethyl-2-furancarboxylat, Ethylgallat,  
 Ethyllävulinat, Ethylmandelat, Ethyl-2-methylactat, Ethyl-4-nitrocinnamat, Ethyloxamat,  
 Ethyl-2-oxocyclohexancarboxylat, Ethyl-4-oxocyclohexancarboxylat, Ethyl-5-oxohexanoat,  
 Ethyl-2-phenylacetoacetat, Ethyl-2-phenylacetoacetat, Ethyl-(phenylglyoxylat), Ethyl-4-piperi-  
 dincarboxylat, Ethyl-2-pyridincarboxylat, Ethyl-3-pyridincarboxylat, Ethyl-4-pyridincarboxylat,  
 Ethylpyruvat, Ethylthioglycolat, Ethyl-3,4,5-trihydroxybenzoat, (2-Hydroxyethyl)-methacrylat,

(2-Hydroxypropyl)-methacrylat, 3-Indolacetat, (2-Methoxyethyl)-acetat, (1-Methoxy-2-propyl)-acetat, Methylacetoacetat, Methyl-2-aminoabenzooat, Methyl-3-aminocroconat, Methyl-cyanacetat, Methyl-(4-cyanbenzoat), Methyl-(4-formylbenzoat), Methyl-2-furancarboxylat, Methyl-isobutyrylacetat, Methyl-methoxyacetat, Methyl-2-methoxybenzoat, Methyl-3-oxo-pentanoat, Methyl-phenylglyoxylat, Methyl-phenylsulfinylacetat, Methylpivaloylacetat, Methyl-3-pyridincarboxylat, 5-Nitrofurfurylidendiacetat, Propylgallat, Propyl-3,4,5-trihydroxybenzoat, Methyl-(3-methylthiopropionat), Acetamid, Acetanilid, Benzamid, Benzanilid, N,N-Diethylacetamid, N,N-Dimethylformamid, N,N-Diethyl-3-methylbenzamid, Diethyltoluamid, N,N-Dimethylacetamid, N,N-Dimethylformamid, N,N-Diphenylacetamid, N-Methylformamid, N-Methylformanilid, N-Acetylthioharnstoff, Adipinsäurediamid, 2-Aminobenzamid, 4-Aminobenzamid, Bernsteinsäurediamid, Malonsäurediamid, N,N'-Methylendiacylamid, Oxalsäurediamid, Pyrazin-2-carbonsäureamid, Pyridin-4-carbonsäureamid, N',N'-Tetramethylbernsteinsäurediamid, N,N,N',N'-Tetramethylglutarsäurediamid, Acetoacetanilid, Benzohydroxamsäure, Cyanacetamid, 2-Ethoxybenzamid, Diethyl-acetamidomalonat, Ethyl-(acetamidocyanacetat), Ethyloxamat, Hippursäure-Na-Salz, N-(Hydroxymethyl)-acrylamid, L-(-) Michsäureamid, 2'-Nitroacetanilid, 3'-Nitroacetanilid, 4'-Nitroacetanilid, Paracetamol, Piperin, Salicylanilid, 2-Acetyl- $\gamma$ -butyrolacton,  $\gamma$ -Butyrolacton,  $\epsilon$ -Caprolacton, Dihydrocumarin, 4-Hydroxycumarin, 2(5H)-Furanon, 2,5-Dihydro-5-methoxy-2-furanon, Phthalid, Tetrahydrofuran-2,4-dion, 2,2,6-Trimethyl-1,3-dioxin-4-on,  $\gamma$ -Valerolacton, 4-Amino-1,3-dimethyluracil, Barbitursäure, O-Benzylloxycarbonyl-N-hydroxy-succinimid, Bernsteinsäureimid, 3,6-Dimethylpiperazin-2,5-dion, 5,5-Diphenylhydantoin, Ethyl-1,3-dioxoisindolin-2-carboxylat, 9-Fluorenylmethyl-succinimidyl-carbonat, Hydantoin, Maleinimid, Methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-on, 1-Methyl-2-pyrrolidon, Methyluracil, 6-Methyluracil, Adol, Phenytoin, 1 (2H)-Phthalazinon, Phthalimid, 2,5-Piperazindion, 2-Piperidinon, 2-Pyrrolidon, Rhodanin, Saccharin, 1,2,3,6-Tetrahydrophthalimid, 1,2,3,4-Tetrahydro-6,7-dimethoxy-chinazolin-2,4-dion, 1,5,5-Trimethylhydantoin, 1-Vinyl-2-pyrrolidon, Di-tert-butylldicarbonat, Diethylcarbonat, Dimethylcarbonat, Dimethyldicarbonat, Diphenylcarbonat, 4,5-Diphenyl-1,3-dioxol-2-on, 4,6-Diphenylthieno(3,4-d)-1,3-dioxol-2-on-5,5-dioxid, Ethylencarbonat, Magnesium-methoxid-methyl-carbonat, Monomethylcarbonat-Na-Salz, Propylencarbonat, N-Allylharnstoff, Azodicarbonsäurediamid, N-Benzylharnstoff, Biuret, 1,1'-Carbonyldiimidazol, N,N-Dimethylharnstoff, N-Ethylharnstoff, N-Formylharnstoff, Harnstoff, n-Methylharnstoff, N-Phenylharnstoff, 4-Phenylsemicarbazid, Tetramethylharnstoff,

Semicarbazidhydrochlorid, Diethyl-azodicarboxylat, Methylcarbamat, 1-(4-Methoxyphenyl)-2-(2-methoxy-phenoxy)-ethanon, 1-(4-Methoxyphenyl)-2-(2-methoxy-phenoxy)-ethanol.

Weiterhin bevorzugt sind Anhydride wie:

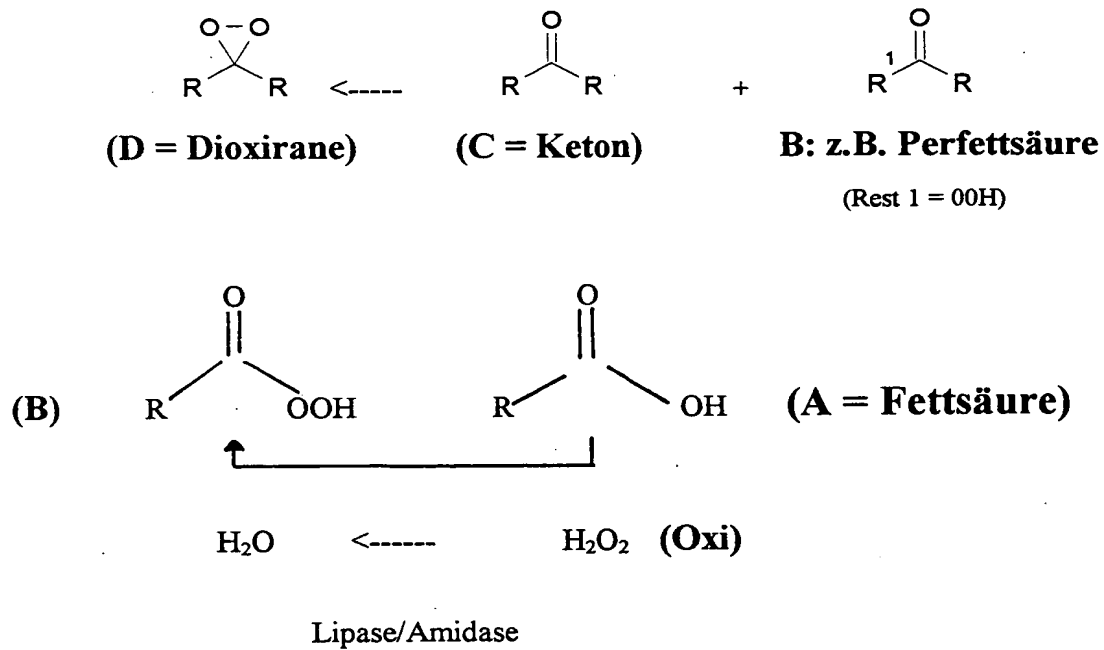
Benzoesäureanhydrid, Benzol-1,2,4,5-tetracarbonsäure-1,2,4,5-dianhydrid, 3,3',4,4'-Benzophenontetracarbonsäureanhydrid, Bernsteinsäureanhydrid, Buttersäureanhydrid, Crotonsäureanhydrid, cis-1,2-Cyclohexandicarbonsäureanhydrid, Di-tert-butyl dicarbonat, Dimethyldicarbonat, Dodecenylnorborneneanhydrid, Epicon B4400, Essigsäureanhydrid, Glutarsäureanhydrid, Hexansäureanhydrid, Isatosäureanhydrid, Isobuttersäureanhydrid, Isovaleriansäureanhydrid, Maleinsäureanhydrid, Naphthalin-1,8-dicarbonsäureanhydrid, 3-Nitrophthalsäureanhydrid, 5-Norbornen-2,3-dicarbonsäureanhydrid, Phthalsäureanhydrid, 2-Phenylbuttersäureanhydrid, Pivalinsäureanhydrid, Propionsäureanhydrid, cis-1,2,3,6-Tetrahydrophthalsäureanhydrid, Valeriansäureanhydrid.

Iders bevorzugt sind Benzophenone wie:

Benzophenon, 4-Aminobenzophenon, 2-Amino-5-chlorbenzophenon, Benzophenon-2-carbonsäure, (S)-(-)-2-(N-Benzopropyl)-aminobenzophenon, 4,4'-Bis-(dimethylamino)-benzophenon, 4,4'-Bis-(diethylamino)-benzophenon, 3,4-Dimethoxybenzophenon, 4,4'-Dihydroxybenzophenon, 2,4-Dihydroxybenzophenon, 4-Hydroxybenzophenon, 2-Hydroxy-4-Methoxybenzophenon, 4-Methoxybenzophenon, 4,4'-Dimethoxybenzophenon, 2,2',4,4' Tetrahydroxybenzophenon, 2-Chlorbenzophenon.

Abbildung 1 zeigt schematisch einen möglichen Reaktionscyclus aller Komponenten:

Abb. 1:



Komponente 1) = Enzym/ Hydrolase: z.B. Lipase/Amidase

Komponente 2) = Fettsäure (A)

Komponente 3) = Oxidationsmittel (Oxi)

Komponente 4) = Keton (C)

B, = z.B. Perfettsäure

D) = Dioxirane



Genauere Beschreibung des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) in Bezug auf die verschiedenen Anwendungen:

### I) Einsatz in der Zellstoffbleiche

Als eine Komponente des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) wird Enzym, bevorzugt Lipase aus z.B. *Humicola lanuginosa*, in einer Konzentration von 0.05 bis 5 mg pro g Zellstoff, bevorzugt 0.05 mg bis 2 mg Enzym pro g Zellstoff (entsprechend ca. 250 bis 10000 IU pro g Zellstoff) eingesetzt (1 IU hydrolysiert 1  $\mu$ Äquivalent Fettsäure von einem Triglycerid in 1h bei pH 7.7 und 37 ° C).

Vorzugsweise wird die Delignifizierung (Bleiche) durch das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis htem O<sub>2</sub>-Überdruck und in einem pH-Bereich von 2 bis 11, vorzugsweise pH 3-9, bei einer peratur von 20 bis 95°C, vorzugsweise 40 - 95°C, und einer Stoffdichte von 0,5 bis 40 % durchgeführt.

Ein für den Einsatz von Enzymen bei der Zellstoffbleiche ungewöhnlicher und überraschender Befund ist, daß beim Einsatz des erfindungsgemäßen Enzym-Komponenten-Systems eine Steigerung der Stoffdichte eine erhebliche Steigerung der Kappaerniedrigung ermöglicht. Aus ökonomischen Gründen bevorzugt wird ein erfindungsgemäßes Verfahren bei Stoffdichten von 4 bis 35 %, besonders bevorzugt 4 bis 15 % durchgeführt.

Als weiterer Faktor wird als **Oxidationsmittel** vorzugsweise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Zellstoff (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 10 mg pro g Zellstoff resetzt.

Als weiterer Faktor werden **Fettsäuren** in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub>, besonders bevorzugt C<sub>8</sub> bis C<sub>16</sub>, ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Zellstoff, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 10 mg pro g Zellstoff eingesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Ketone**, bevorzugt z.B. Benzophenone in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Zellstoff, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 10 mg pro g Zellstoff eingesetzt.

Der Einsatz des erfindungsgemäßen Enzym-Komponenten-Systems in einem Verfahren zum Behandeln von Lignin erfolgt beispielsweise dadurch, daß man die jeweils ausgewählten Komponenten gleichzeitig oder in beliebiger Reihenfolge mit einer wässrigen Suspension des ligninhaltigen Materials mischt. Vorzugsweise wird die Reaktion durch Zugabe des Oxidationsmittels oder der Enzyms gestartet.

Neben diesen oben genannten Hauptkomponenten des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) wie **Enzyme (Lipasen/Amidasen), Oxidationsmittel, Fettsäuren und Ketone**, kann das Bleichsystem zusätzlich phenolische Verbindungen und/oder nicht phenolische Verbindungen mit einem oder mehreren Benzolkernen enthalten, die v.a. dem besseren „Oxidationstransfer“ (Redoxkaskade) und/oder dem Abfangen von Radikalen dienen können, die eventuell zur Polymerisation des Lignins führen könnten.

Neben dem oben erfindungsmäßig bevorzugten Oxidationsmittel  $H_2O_2$  sind besonders bevorzugt: Luft, Sauerstoff (eventuell zusätzlich zu  $H_2O_2$ ), organische Peroxide, Perverbindungen wie Natriumperborat und/oder Natriumpercarbonat, Persulfate u.a. (eventuell zusammen mit Aktivatoren wie TAED u.a.) Sauerstoff kann auch durch  $H_2O_2$  + Katalase o.ä. Systeme in situ generiert werden oder  $H_2O_2$  aus GOD + Glucose o.ä. Systeme in situ generiert werden.

Die Wirksamkeit des erfindungsmäßigen Oxidationssystems als Enzym-Komponenten-System (ECS) beim Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder solchen Stoffen ist häufig nochmals gesteigert, wenn neben den genannten Bestandteilen noch  $Mg^{2+}$  Ionen vorhanden sind. Die  $Mg^{2+}$  Ionen können beispielsweise als Salz, wie z.B.  $MgSO_4$ , eingesetzt werden. Die Konzentration liegt im Bereich von 0,1 - 2 mg/g ligninhaltigem Material, vorzugsweise bei 0,2 - 0,6 mg/g.

In manchen Fällen läßt sich eine weitere Steigerung der Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) dadurch erreichen, daß das System neben den  $Mg^{2+}$  Ionen auch Komplexbildner wie z.B. Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA), Hydroxyethylendiamintriessigsäure (HEDTA), Diethylentriaminpentamethylenphosphonsäure (DTMPA), Nitrilotriessigsäure (NTA),

Polyphosphorsäure (PPA) etc. enthält. Die Konzentration liegt im Bereich von 0,2 - 5 mg/g ligninhaltigem Material, vorzugsweise bei 1 - 3 mg.

Überraschenderweise zeigte sich ferner, daß eine saure Wäsche (pH 2 bis 6, vorzugsweise 2 bis 5) oder Q-Stufe (pH-Wert 2 bis 6, vorzugsweise 2 bis 5) vor der ECS-Stufe bei manchen Zellstoffen zu einer erheblichen Kappazahlerniedrigung im Vergleich zur Behandlung ohne diese spezielle Vorbehandlung führt. In der Q-Stufe werden als Chelatbildner die zu diesem Zwecke üblichen Substanzen (wie z.B. EDTA, DTPA) eingesetzt. Sie werden vorzugsweise in Konzentrationen von 0,1 %/ to bis 1 %/ to besonders bevorzugt 0,1 % /to bis 0,5 % /to eingesetzt.

Gleichzeitig können Reduktionsmittel zugegeben werden, die zusammen mit den vorhandenen Oxidationsmitteln zur Einstellung eines bestimmten Redoxpotentials dienen.

Als Reduktionsmittel können Natrium-Bisulfit, Natrium-Dithionit, Ascorbinsäure, Thioverbindungen, Mercaptoverbindungen oder Glutathion etc. eingesetzt werden.

Außerdem können dem System Radikalbildner oder Radikalfänger (Abfangen von beispielsweise  $\text{OH}\cdot$  oder  $\text{OOH}\cdot$  Radikalen) zugesetzt werden. Diese können das Zusammenspiel innerhalb der Red/Ox- und Radikalmediatoren verbessern.

Der Reaktionslösung können auch weitere Metallsalze zugegeben werden.

Diese sind im Zusammenwirken mit Chelatbildnern als Radikalbildner oder Red/Ox-Zentren wichtig. Die Salze bilden in der Reaktionslösung Kationen. Solche Ionen sind u.a.  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{4+}$ ,  $\text{Cu}^{1+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ti}^{3+}$ ,  $\text{Ce}^{4+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ .

Die in der Lösung vorhandenen Chelate können darüber hinaus als Mimicsubstanzen für bestimmte Oxidoreduktasen wie die Laccasen (Kupferkomplexe) oder für die Lignin- oder Manganperoxidasen (Hämkomplexe) dienen. Unter Mimicsubstanzen sind solche Stoffe zu verstehen, die die prosthetischen Gruppen von (hier) Oxidoreduktasen simulieren und z.B. Oxidationsreaktionen katalysieren können.

Weiterhin kann dem Reaktionsgemisch  $\text{NaOCl}$  zugesetzt werden. Diese Verbindung kann im Zusammenspiel mit Wasserstoffperoxid Singulett-Sauerstoff bilden.

Schließlich ist es auch möglich, unter Einsatz von Detergentien zu arbeiten. Als solche kommen nicht-ionische, anionische, kationische und amphotere Tenside in Betracht. Die Detergentien können die Penetration der Enzyme und der anderen Komponenten in die Faser verbessern.

Ebenso kann es für die Reaktion förderlich sein, Polysaccharide und/oder Proteine zuzusetzen. Hier sind insbesondere als Polysaccharide Glucane, Mannane, Dextrane, Lävane, Pektine, Alginate oder Pflanzengummi und als Proteine Gelatine und Albumin zu nennen. Diese Stoffe dienen hauptsächlich als Schutzkolloide für die Enzyme.

Weitere Proteine, die zugesetzt werden können, sind Proteasen wie Pepsin, Bromelin, Papain usw.. Diese können u.a. dazu dienen, durch den Abbau des im Holz vorhandenen Extensins (Hydroxyprolinreiches Protein) einen besseren Zugang zum Lignin zu erreichen.

Als weitere Schutzkolloide kommen Aminosäuren, Einfachzucker, Oligomierzucker, PEG-Typen der verschiedensten Molekulargewichte, Polyethylenoxide, Polyethylenimine und Polydimethylsiloxane in Frage.

Weiterhin können dem erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Stoffe zugesetzt werden, die die Hydrophobizität des Reaktionsmilieus verstärken und somit quellend auf das Lignin in den Fasern wirken und somit dessen Angreifbarkeit erhöhen.

Solche Stoffe sind z.B. **Glycole** wie: Propylenglycol, Ethylenglycol, **Glycolether** wie:

Ethylenglycoldimethylether etc. aber auch Lösungsmittel wie z.B. **Alkohole** wie:

Methanol, Ethanol, Butanol, Amyl-alkohol, Cyclohexanol, Benzylalkohol, Chlorhydrin,

**Phenole** wie: Phenol, Methyl- und Methoxyphenole, **Aldehyde** wie: Formaldehyd, Chloral,

**captane** wie: Butylmercaptan, Benzylmercaptan, Thioglycolsäure, **Organische Säuren**

wie: Ameisensäure, Essigsäure, Chloressigsäure, **Amine** wie Ammoniak, Hydrazin,

**Hydrotope Lösungsmittel** wie: z.B. konz. Lösungen von Natriumbenzoat, **Sonstige** wie:

Benzole, Pyridine, Dioxan, Acetessigsäureethylester, andere basische Lösungsmittel wie OH/H<sub>2</sub>O, bzw. OH/Alkohole u.a.

Das erfindungsgemäße Verfahren kann nicht nur bei der Delignifizierung (Bleiche) von Sulfat-, Sulfit-, Organosolv-, o.a. Zellstoffen und von Holzstoffen eingesetzt werden, sondern auch bei der Herstellung von Zellstoffen allgemein, sei es aus Holz- oder Einjahrespflanzen, wenn eine Defibrillierung durch die üblichen Kochverfahren (verbunden eventuell mit mechanischen

Verfahren oder Druck) d.h. eine sehr schonende Kochung bis zu Kappazahlen, die im Bereich von ca. 50 - 120 Kappa liegen können, gewährleistet ist.

Bei der Bleiche von Zellstoffen wie auch bei der Herstellung von Zellstoffen kann die Behandlung mit dem erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System (ECS) einmalig erfolgen oder mehrfach wiederholt werden, entweder vor und/oder nach Wäsche und Extraktion des behandelten Stoffes mit NaOH etc. oder ohne diese Zwischenschritte aber auch vor und/oder nach

Vor- und/oder Nachbehandlungsschritten wie Saurer Wäsche, Q-Stufen, alkalisches leaching,, Bleichstufen: wie Peroxidbleichen, O<sub>2</sub>- verstärkte Peroxidstufen, Druckperoxidstufen, O<sub>2</sub>- Delignifizierung, Cl<sub>2</sub>-Bleiche, ClO<sub>2</sub>-Bleiche, Cl<sub>2</sub> /ClO<sub>2</sub>-Bleiche, Persäurebleichstufen, Persäure-verstärkte O<sub>2</sub>- Bleiche/Peroxidbleiche, Ozonbleiche, Dioxiranbleiche, reduktive Bleichstufen,

e Behandlungen wie: Quellstufen, Sulfonierungen, NO/NO<sub>2</sub>-Behandlungen,

Nitrosylschwefelsäurebehandlung, Enzymbehandlungen wie z.B.

Behandlungen mit Hydrolasen wie Cellulasen und/oder Hemicellulasen (z.B. Xylanase, Mannanase etc.) und/oder Pektinasen und/oder Proteinasen und/oder Lipasen und/oder Amidasen und/oder Oxidoreduktasen wie z.B. Laccasen und/oder Peroxidasen etc. bzw. mehreren kombinierten Behandlungen erfolgen.

Dies führt zu noch wesentlich weiter reduzierbaren Kappawerten und zu erheblichen Weißesteigerungen. Ebenso kann vor der ECS-Behandlung eine O<sub>2</sub>-Stufe eingesetzt werden oder auch wie bereits erwähnt eine saure Wäsche oder Q-Stufe (Chelatstufe) ausgeführt werden.

Im folgenden wird die Erfindung anhand von Beispielen näher erläutert:

### Ziel 1

#### **Enzymatische Bleiche von Softwood O<sub>2</sub>-delignifiziert (Sulfatzellstoff)**

5 g atro Zellstoff (Softwood O<sub>2</sub> delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 1 mg Tetradecansäure, 5 mg Benzophenon und 2.5 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%ige Ware) pro g Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit Schwefelsäure und/oder Natronlauge so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 7.5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit 5 mg Lipase von Humicola lanuginosa versetzt (ca. 25000IU).

Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigkneteter gemixt.

Danach wird der Stoff in ein auf 45°C vorgeheiztes Reaktionsgefäß gegeben und unter Normaldruck für 1 - 4 Stunden inkubiert.

Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30  $\mu\text{m}$ ) gewaschen und 1 Stunde bei 60°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.

Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

Ergebnis vergl. Tabelle 1.

### **Beispiel 2**

#### **Enzymatische Bleiche von Hardwood O<sub>2</sub>-delignifiziert (Sulfatzellstoff)**

5 g atro Zellstoff (Hardwood O<sub>2</sub>-delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 1 mg Tetradecansäure, 5 mg Benzophenon und 2.5 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%ige Ware) pro g Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit Schwefelsäure und/oder Natronlauge so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 7.5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit 5 mg Lipase von Humicola lanuginosa versetzt (ca. 25000IU).

Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigkneteter gemixt.

Dann wird der Stoff in ein auf 45°C vorgeheiztes Reaktionsgefäß gegeben und unter Normaldruck für 1 - 4 Stunden inkubiert.

Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30  $\mu\text{m}$ ) gewaschen und 1 Stunde bei 60°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.

Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

Ergebnis vergl. Tabelle 1.

### **Beispiel 3**

#### **Enzymatische Bleiche von Softwood O<sub>2</sub>-delignifiziert (Sulfatzellstoff)**

5 g atro Zellstoff (Softwood O<sub>2</sub>-delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 1 mg Tetradecansäure, 5 mg Benzophenon und 2.5 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%ige Ware) pro g Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit Schwefelsäure und/oder Natronlauge so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 7.5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit 200 IU Amidase von Pseudomonas aeruginosa (Sigma A-0091) versetzt (1 IU = Umsatz von 1  $\mu\text{mol}$  Acetamid und Hydroxylamin zu Acetohydroxamsäure und NH<sub>3</sub> pro Minute bei pH 7.2 und 37 °C).

Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigkneteter gemixt.

Danach wird der Stoff in ein auf 45°C vorgeheiztes Reaktionsgefäß gegeben und unter Normaldruck für 1 - 4 Stunden inkubiert.

Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30  $\mu\text{m}$ ) gewaschen und 1 Stunde bei 60°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.

Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

Ergebnis vergl. Tabelle 1.

-alt-

**Tabelle 1**

| <b>Zellstoff</b>  | <b>% Delignifizierung<br/>(vor Extraktion)</b> | <b>% Delignifizierung<br/>(nach Extraktion)</b> |
|---|--|---|
| a) Softwood<br>(unbehandelt)  | ----   | 5.8%  |
| b) Softwood<br>(behandelt/Lipase)   | 19%  | 32%   |
| c) Hardwood<br>(unbehandelt)  | ----   | 6.5%  |
| d) Hardwood<br>(behandelt/Lipase)   | 21%  | 33%   |
| e) Softwood<br>(behandelt/Amidase)  | 15.5%  | 23%   |
| f) Vergleichsbeispiel:<br>Laccase + HOBT (5kg/to<br>Zellstoff/ sonst. Bedingungen<br>wie in WO 96/ 18770<br>(Stoff a/b) | 17.5%  | 22%   |

## **II) Einsatz bei der enzymatischen Abwasserbehandlung, z.B. von Schleiferei-Abwasser der Papierindustrie**

In dieser Anwendung kein Ligninabbau erwünscht ist, sondern eine Aufpolymerisierung von im Abwasser enthaltenem Lignin oder Ligninbestandteilen, wird das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System (ECS) mit geringerer Dosage der Komponenten und/oder anderen Komponenten und mit Zusatz von Polymerisationskatalysatoren eingesetzt.

Als eine Komponente des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) wird Enzym, bevorzugt Lipase aus *Aspergillus spec.*, in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt 0.05 mg bis 10 mg Enzym pro Liter Abwasser (entsprechend ca. 250 bis 50000 IU pro Liter Abwasser) eingesetzt ( 1 IU hydrolysiert 1  $\mu$ Äquivalent Fettsäure von einem Triglycerid in 1h bei pH 7.7 und 37 ° C).

Vorzugsweise wird die Behandlung des Schleiferei-Abwassers durch das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis leichtem O<sub>2</sub>-Überdruck und in einem pH-Bereich von 2 bis 11, vorzugsweise pH 3-6, bei einer Temperatur von 20 bis 95°C, vorzugsweise 40 - 95°C durchgeführt.

Als weiterer Faktor wird als **Oxidationsmittel** vorzugsweise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser zugesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Fettsäuren** in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub>, besonders bevorzugt C<sub>8</sub> bis C<sub>16</sub>, ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Ketone**, bevorzugt z.B. Benzophenone in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt.

Desweiteren werden zur Steigerung der Effizienz des Verfahrens und um weniger Fällmittel (meist Natriumaluminat/Aluminiumsulfat) einsetzen zu müssen, welche den Hauptkostenfaktor darstellen, **Polymerisationskatalysatoren** eingesetzt, meistens phenolische Substanzen bzw. Polycyclen mit mehreren oxidierbaren Hydroxylgruppen wie hier bevorzugt z.B. Purpurgallin.

Die Substanzen werden in einer Konzentration von 0.005 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration von 0.005 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt.

Im folgenden wird die Erfindung an Hand von Beispielen näher erläutert:

#### Beispiel 4

Zu 190 ml Schleiferei-Abwasser werden nach Einstellung des Wassers auf pH 6 und Vortemperierung des Wassers in einem entsprechenden doppelwandigen Reaktionsgefäß auf 45 ° C folgende Lösungen gegeben:

1. Enzmlösung (Lipase von *Aspergillus spec.*): 1 mg in 0,1 ml Wasser.
- 2) Fettsäurelösung: 1 mg Dodecansäure in 1 ml Wasser.
- 3) Ketonlösung: 1 mg 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenon in 1 ml Wasser.
- 4) Polymerisationskatalysator: 0.1 mg Purpurgallin in 0.1 ml Wasser.



Die Reaktion wird durch Zugabe von Lösung 5) (Oxidationsmittel  $\rightarrow$   $\text{H}_2\text{O}_2$ ) gestartet; es werden 3.3 mg  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%ige Ware) in 0.1 ml Wasser zugegeben und das Volumen mit vorgewärmten Abwasser auf 200 ml aufgefüllt

Die Reaktion wird für 1 bis 4 Stunden fortgeführt, vorzugsweise 2 Stunden.

Danach wird das Abwasser entweder nur filtriert, filtriert und mit 0.2%/0.2% oder 0.5%/0.5% Aluminiumsulfatlösung/ Natriumaluminatlösung, jeweils 10 Gew.%ig gefällt im Vergleich zum unbehandelten Nullwert. Das Lignin, welches normalerweise im Schleifereiwasser ohne Behandlung im Bereich von 600 bis 900 mg Lignin pro Liter vorhanden ist wird durch photometrische Bestimmung bei 280 nm quantifiziert. Die Abnahme des Lignins ist ein Maß für die CSB-Reduktion und für die Effizienz des Systems.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammen gefaßt.

### Beispiel 5

(ohne Polymerisationskatalysator)

Zu 190 ml Schleiferei-Abwasser werden nach Einstellung des Wassers auf pH 6 und Vortemperierung des Wassers in einem entsprechenden doppelwandigen Reaktionsgefäß auf 45°C folgende Lösungen gegeben:

1) Enzymlösung (Lipase von *Aspergillus spec.*): 1mg in 0,1 ml Wasser.

2) Puffersäurelösung: 1 mg Dodecansäure in 1ml Wasser.

3) Ketonlösung: 1 mg 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenon in 1 ml Wasser.

Die Reaktion wird durch Zugabe von Lösung 4) (Oxidationsmittel  $\rightarrow$   $\text{H}_2\text{O}_2$ ) gestartet; es werden 3.3 mg  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%ige Ware) in 0.1 ml Wasser zugegeben und das Volumen mit vorgewärmten Abwasser auf 200 ml aufgefüllt.,

Die Reaktion wird für 1 bis 4 Stunden fortgeführt, vorzugsweise 2 Stunden.

Danach wird das Abwasser entweder nur filtriert, filtriert und mit 0.2%/0.2% oder 0.5%/0.5% Aluminiumsulfatlösung/ Natriumaluminatlösung, jeweils 10 Gew.%ig gefällt im Vergleich zum unbehandelten Nullwert. Das Lignin, welches normalerweise im Schleifereiwasser ohne Behandlung im Bereich von 600 bis 900 mg Lignin pro Liter vorhanden ist wird durch photometrische Bestimmung bei 280 nm quantifiziert. Die Abnahme des Lignins ist ein Maß für die CSB-Reduktion und für die Effizienz des Systems.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2

| Behandlung   | Restlignin n. 2Std. (0-Wert = 600 mg /Liter) |
|--|--|
| ohne Behandlung<br>(filtriert)   | 800 mg/l                                     |
| ohne Behandlung<br>(filtriert/gefällt*)  | 720 mg/l                                     |
| mit Behandlung ( Lipase)<br>(filtriert/gefällt*)<br>mit Polym.Kat. **  | 100 mg/l                                     |
| Vergleichsbehandlung:<br>5000 IU Laccase<br>Liter Abwasser<br>(filtriert/gefällt*)<br>mit Polym.Kat. **  | 170 mg/l                                     |
| mit Behandlung (Lipase).<br>(filtriert/gefällt*)<br>ohne Polym. Kat.   | 220 mg/l                                     |
| mit Behandlung<br>(filtriert/gefällt*)<br>mit Polym.Kat. ** (Humicola Lipase)<br>(Versuch: Polymerisierung und/oder Modifizierung von Lignin /siehe unten) | 160 mg/l                                     |

\*gezeigt sind nur die 0.5%/0.5%-Fällungen

\*\* Polymerisationskatalysator

### III) Einsatz bei der Herstellung von Ligninlösungen oder Gelen, von entsprechenden Bindern/Klebern und von Holzverbundstoffen

Da auch in dieser Anwendung kein Ligninabbau erwünscht ist, sondern eine Aufpolymerisierung und/oder Modifizierung von Lignin oder ligninenthaltenden Materialien, wird das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System (ECS) mit geringerer Dosage der Komponenten und/oder anderen Komponenten und mit Zusatz von Polymerisationskatalysatoren eingesetzt.

Da es sich herausgestellt hat, daß die Polymerisation von Lignin in z.B. Holzschliffabwasser (Schleifereiabwasser) ein gutes System zur Beurteilung von genereller Polymerisierungs-

eigenschaft auch für den Anwendungszweck als Enzym-Komponenten-System (ECS) bei der Herstellung von Ligninlösungen oder Gelen, von entsprechenden Bindern/Klebern und von Holzverbundstoffen darstellen kann, wurden als Versuche der gleiche Versuchsansatz wie bei den Abwasserversuchen gewählt.

Dabei ist aus den oben genannten Patentschriften WO 94/ 01488, WO 93/25622 und WO 93/23477 und DE 3037992 C2 bekannt, daß z.B. bei der Herstellung von „particle board“ der durch Polymerisation und Lösen von Lignin hergestellte Binder durch Spraysen in einer Menge von ca. 40 bis 100 g pro kg Holzfasermaterial auf dieses aufgebracht wird und das entsprechende Pressen des Materials bei einem Druck von ca. 20-40 kg/cm<sup>2</sup> für ca. 2-4 Minuten bei Erhöhung der Temperatur von ca. 35 auf 190 °C innerhalb von ca. 20 Sekunden erfolgt. Dabei können allerdings auch die beim Pressen nötigen Drücke und Temperaturen wesentlich geringer sein, und eine nachfolgende Aushärtung des Binder/Holzfasergerisches durch weitergehende unkatalysierte Reaktionen erwünscht sein.

Zur Beurteilung der Polymerisationseigenschaften des ECS für diesen Anwendungszweck wird - wie oben erwähnt - das oben beschriebene Ligninentfernungssystem aus Schleifereiabwasser als Modellsystem verwendet.

Als eine Komponente des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) wird Enzym, bevorzugt Lipase aus *Humicola lanuginosa*, in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt 0.05 mg bis 10 mg Enzym pro Liter Abwasser (entsprechend ca. 250 bis 50000 IU pro Liter Abwasser) eingesetzt (1 IU hydrolysiert 1 µÄquivalent Fettsäure von einem Triglycerid in 1h bei pH 7.7 und 37 °C).

Vorzugsweise wird die Behandlung des Schleiferei-Abwassers durch das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis einem O<sub>2</sub>-Überdruck und in einem pH-Bereich von 2 bis 11, vorzugsweise pH 3-6, bei einer Temperatur von 20 bis 95°C, vorzugsweise 40 - 95°C durchgeführt.

Als weiterer Faktor wird als **Oxidationsmittel** vorzugsweise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser zugesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Fettsäuren** in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub>, besonders bevorzugt C<sub>8</sub> bis C<sub>16</sub>, ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Ketone**, bevorzugt z.B. Benzophenone in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt.

Desweiteren werden zur Steigerung der Effizienz des Verfahrens und um weniger Fällmittel (meist Natriumaluminat/Aluminiumsulfat) einsetzen zu müssen, welche den Hauptkostenfaktor darstellen, **Polymerisationskatalysatoren** eingesetzt, meistens phenolische Substanzen bzw. Polycyclen mit mehreren oxidierbaren Hydroxylgruppen wie hier bevorzugt z.B. Purpurgallin.

Diese Substanzen werden in einer Konzentration von 0.005 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration von 0.005 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt.

#### piel 6

Zu 190 ml Schleiferei-Abwasser werden nach Einstellung des Wassers auf pH 8.5 und Vortemperierung des Wassers in einem entsprechenden doppelwandigen Reaktionsgefäß auf 45 ° C folgende Lösungen gegeben:

1. Enzmlösung (Lipase von Humicola lanuginosa): 1mg in 0,1 ml Wasser.
- 2) Fettsäurelösung: 1 mg Dodecansäure in 1ml Wasser.
- 3) Ketonlösung: 1 mg 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenon in 1 ml Wasser.
- 4) Polymerisationskatalysator: 0.1 mg Purpurgallin in 0.1 ml Wasser.

Die Reaktion wird durch Zugabe von Lösung 5) (Oxidationsmittel -->  $H_2O_2$ ) gestartet; es werden 3.3 mg  $H_2O_2$  (30%ige Ware) in 0.1 ml Wasser zugegeben und das Volumen mit vorgewärmtem Abwasser auf 200 ml aufgefüllt.

Die Reaktion wird für 1 bis 4 Stunden fortgeführt, vorzugsweise 2 Stunden.

Danach wird das Abwasser entweder nur filtriert, filtriert und mit 0.2%/0.2% oder 0.5%/0.5% Aluminiumsulfatlösung/ Natriumaluminatlösung, jeweils 10 Gew.%ig gefällt im Vergleich zum unbehandelten Nullwert. Das Lignin, welches normalerweise im Schleifereiwasser ohne

ndlung im Bereich von 600 bis 900 mg Lignin pro Liter vorhanden ist wird durch

ometrische Bestimmung bei 280 nm quantifiziert. Die Abnahme des Lignins ist

ein Maß für die CSB-Reduktion und für die Effizienz des Systems.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

#### IV) Einsatz als enzymatisches Deinksystem

Auch bei dieser Anwendung ist kein Ligninabbau erwünscht, sondern eine Quellbeeinflussung der ligninhaltigen Fasern zum Loslösen der anhaftenden Druckfarbpartikel ähnlich der Wirkung der Natronlauge beim konventionellen chemischen Deinken.

Dem erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System (ECS) werden neben den üblichen Komponenten wie Lipase, Oxidationsmittel, Fettsäure und Keton eine Reihe von

phenolischen Substanzen zugesetzt, die bei der Anwendung: Abwasserbehandlung bzw. Ligninpolymerisation/Modifikation als Polymerisationskatalysatoren dienen. Hier wurde überraschenderweise gefunden, daß diese Substanzen den pH-Wert des Enzymwirkoptimums verschieben und die Performance verbessern können. Ebenso wurde überraschenderweise gefunden, daß der Zusatz von Reduktionsmitteln, vorzugsweise Dithionit oder Bisulfit die Farbablösungseffizienz steigern kann

Als eine Komponente des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) wird Enzym, bevorzugt Lipase aus *Humicola lanuginosa*, in einer Konzentration von 5 bis 500 mg pro kg Altpapier, bevorzugt 5 mg bis 100 mg Enzym pro kg Altpapier (entsprechend ca. 25000 bis 500000 IU pro kg Altpapier) eingesetzt (1 IU hydrolysiert 1  $\mu$ Äquivalent Fettsäure von einem Triglycerid in 1h bei pH 7.7 und 37 °C).

zugewise wird die Behandlung des Altpapiers zur Entfernung der Druckfarbpartikel durch das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis leichtem Überdruck (maximal 2 bar) und in einem pH-Bereich von 7 bis 11, vorzugsweise pH 7-9, bei einer Temperatur von 20 bis 95°C, vorzugsweise 40 - 95°C durchgeführt.

Als weiterer Faktor wird als **Oxidationsmittel** vorzugsweise  $H_2O_2$  in einer Konzentration von 5 bis 5000 mg pro kg Altpapier (100%ige Ware), vorzugsweise 5 bis 1000 mg pro kg Altpapier zugesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Fettsäuren** in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt  $C_6$  bis  $C_{26}$ , besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$ , ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in

er Konzentration von 5 bis 2000 mg pro kg Altpapier, bevorzugt in einer Konzentration von bis 500 mg pro kg Altpapier eingesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Ketone**, bevorzugt z.B. Benzophenone in einer Konzentration von 5 bis 2000 mg pro kg Altpapier, bevorzugt in einer Konzentration von 5 bis 500 mg pro kg Altpapier eingesetzt.

Desweiteren werden zur Steigerung der Effizienz des Verfahrens die oben erwähnten Verbindungen eingesetzt, wie **phenolische Substanzen bzw. Polycyclen** mit mehreren oxidierbaren Hydroxylgruppen, bevorzugt z.B. Bisphenol A

Diese Substanzen werden in einer Konzentration von 1 bis 2000 mg pro kg Altpapier, bevorzugt in einer Konzentration von 1 bis 500 mg pro kg Altpapier eingesetzt.

Deweiteren werden **Reduktionsmittel** eingesetzt mit Vorzug Na-Dithionit oder Na-Bisulfit

in einer Konzentration von 0.1 bis 1000 mg pro kg Altpapier, bevorzugt in einer Konzentration von 0.1 bis 200 mg pro kg Altpapier.

Zur Sammlung der Druckfarbpartikel werden handelsübliche Detergentien als Sammler eingesetzt, bevorzugt Incopur-Typen, z.B. Incopur RSGA in einer Konzentration von 1 bis 5000 mg pro kg Altpapier, bevorzugt von 1 bis 1000 mg pro kg Altpapier.

Ebenso können zur Verstärkung der Ablösewirkung bei manchen Altpapierzusammensetzungen weitere Enzyme wie Cellulasen und/oder Hemicellulasen (z.B. Xylanase und/oder Mannanasen etc.) und/oder Pektinasen und/oder Oxidoreduktasen zugesetzt werden.

Im folgenden wird die Erfindung durch Beispiele näher beschrieben:

#### Beispiel 7

Ca. 10 kg Wasser (vorgewärmt auf ca. 45 °C) werden in den Pulper einer Lamort-Labordeinking-Anlage gegeben und der pH-Wert mit Natronlauge (und /oder Schwefelsäure) so eingestellt daß nach Zugabe von 1.5 kg lutro Altpapier ( 50% Zeitung, 50 % Illustrierte), die in in ca. 2 x 3 cm große Stücke geschnitten wurden und der weiterhin zugegebenen Systembestandteile ein pH-Wert von 8.0 bis 8.5 resultiert.

Diese Systembestandteile (pro kg lutro Altpapier) sind:

- a) 500000 IU Lipase von Humicola lanuginosa pro 100 ml Leitungswasser,
- b) 0.1g Dodecansäure pro 100 ml Leitungswasser,
- c) 0.1g Benzophenon pro 100 ml Leitungswasser,
- d) 0.1g Bisphenol A pro 20 ml 0.1 mol NaOH,
- e) 0.02g Na-Bisulfit pro 10 ml Leitungswasser,
- f) 0.5g Incopur RSGA pro 100 ml Leitungswasser,
- g) (30%ige Ware) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pro 100 ml Leitungswasser (wird zuletzt zugegeben)

Der Pulper wird nach Zugabe der Systembestandteile a bis g während der Zugabe des Altpapiers gestartet. Danach wird mit ca. 45°C warmen Leitungswasser die Gesamtwassermenge von 15 kg eingestellt. Der Pulpvorgang wird für 10 Minuten fortgeführt.

Danach wird der Faserbrei zur weiteren Reaktion in ein Warmhaltegefäß überführt und bei ca. 40-45 °C für 15 bis 45 Minuten inkubiert.

100 g atro Stoff werden (nach dieser Inkubation) in einer Voith Flotationszelle auf ca. 20 l Gesamtvolumen mit Leitungswasser (45 °C) aufgefüllt und für 10 bis 20 Minuten flotiert. Der Gutstoff wird abgelassen und von den daraus gefertigten Sohlen nach Trocknung in einem handelsüblichen Blattbildner die ISO Weiße und Helligkeit bestimmt. Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse.

#### Beispiel 8

### Wie Beispiel 7 : anstelle des erfindungsgemäßen Enzymkomponentensystem (ECS) wird nur Wasser eingesetzt.

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse

#### Beispiel 9

Ca. 1 kg Wasser (vorgewärmt auf ca. 45 °C) werden in einen Teigknetter gegeben und der pH-Wert mit Natronlauge (und oder Schwefelsäure) so eingestellt daß nach Zugabe von 150 g lutro Altpapier ( 50% Zeitung, 50 % Illustrierte), die in in ca. 2 x 3 cm große Stücke geschnitten wurden und der weiterhin zugegebenen Systembestandteile ein pH-Wert von 8.0 bis 8.5 resultiert.

Diese Systembestandteile (pro 100g lutro Altpapier) sind:

- a) 5000IU Amidase von *Pseudomonas aeruginosa* (Sigma A 6691) pro 100 ml Leitungswasser, (1 IU = Umsatz von 1 µmol Acetamid und Hydroxylamin zu Acetohydroxamsäure und NH<sub>3</sub> pro min bei pH 7.2 und 37 °C)
- b) 0.01g Dodecansäure pro 100 ml Leitungswasser,
- c) 0.01g Benzophenon pro 100 ml Leitungswasser,
- d) 0.01 g Bisphenol A pro 20 ml 0.1 mol NaOH,
- e) 0.002 g Na-Bisulfit pro 10 ml Leitungswasser,
- f) 0.05 g Incopur RSGA pro 100 ml Leitungswasser,
- g) 0.1g (30%ige Ware) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pro 100 ml Leitungswasser (wird zuletzt zugegeben)

Der Teigknetter wird nach Zugabe der systemkomponenten a bis g während der Zugabe des Altpapiers gestartet. Danach wird mit ca. 45°C warmen Leitungswasser die Gesamtwassermenge von 1.5 kg eingestellt. Der Pulpvorgang wird für 10 Minuten fortgeführt.

Danach wird der Faserbrei zur weiteren Reaktion in ein Warmhaltegefäß überführt und bei ca. 40-45 °C für 15 bis 45 Minuten inkubiert.

100 g atro Stoff werden (nach dieser Inkubation) in einer Voith Flotationszelle auf ca. 20 l Gesamtvolumen mit Leitungswasser (45 °C) aufgefüllt und für 10 bis 20 Minuten flотиert.

Der Gutstoff wird abgelassen und von den daraus gefertigten Sohlen nach Trocknung in einem handelsüblichen Blattbildner die ISO Weiße und Helligkeit bestimmt.

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse.

#### Beispiel 10 (Chemischer Ansatz)

Ca. 10 kg Wasser (vorgewärmt auf ca. 45 °C) werden in den Pulper einer Lamort-Labordeinking-Anlage gegeben und 1.5 kg lutro Altpapier ( 50% Zeitung, 50 % Illustrierte), die in in ca. 2 x 3 cm große Stücke geschnitten wurden, werden nach Zugabe folgender Chemikalien (bezogen auf lutro Stoff zugegeben):

- 1) 0.8 Gew.% Seife (DR 3 Henkel)
- 2) 3.5% Wasserglas
- 3) 2% Natronlauge (100%ig)
- 4) 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (100%ig)

Der Pulper wird schon während der Zugabe des Altpapiers gestartet. Danach wird mit ca. 45°C warmen Leitungswasser die Gesamtwassermenge von 15 kg eingestellt. Der Pulpvorgang wird für 10 Minuten fortgeführt.

Danach wird der Faserbrei zur weiteren Reaktion in ein Warmhaltegefäß überführt und bei ca. 40-45 °C für 15 bis 45 Minuten inkubiert.

100 g atro Stoff werden (nach dieser Inkubation) in einer Voith Flotationszelle auf ca. 20 l Gesamtvolumen mit Leitungswasser (45 °C) aufgefüllt und für 10 bis 20 Minuten flottiert.

Der Gutstoff wird abgelassen und von den daraus gefertigten Sohlen nach Trocknung in einem handelsüblichen Blattbildner die ISO Weiße und Helligkeit bestimmt.

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse.

**Tabelle 3**

| System  | % ISO Weiße |
|---|-------------|
| nur Wasser  | 51          |
| Chemisches System   | 61          |
| ECS/Lipase  | 58.5        |
| ECS/Amidase   | 57          |
| Vergleichssystem:<br>Laccase (800000 IU/kg<br>Papier + Bisphenol A+<br>Bisulfit (0.1 bzw 0.02g/kg<br>Altpapier), weitere Bedingungen,<br>siehe WO 91/ 14820; WO 92/ 20857 | 55.5        |

#### V) Einsatz als Oxidationssystem in der organischen Synthese

Aus der Vielzahl der Einsatzmöglichkeiten des erfindungsgemäßen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) wie Hydroxylierungsreaktionen, Oxidation von ungesättigten Aliphaten, Baeyer-Villiger Oxidationen, Oxidation von Heterocyclen, Kohlenstoff-Kohlenstoff Dehydrogenierungen, andere Oxidationsreaktionen soll als beispielhaft die Oxidation von Alkoholen zu Aldehyden von aromatischen Methylgruppen zu Aldehyden auch im nachfolgenden Beispiel beschrieben werden.

Aus der Literatur ist bekannt, daß diese Reaktionen mit der Oxidoreduktase Laccase und einem Mediator wie ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethyl-benzothiazolin-6-sulfonsäure) möglich ist:

T. Rosenau et al.; Synthetic Communications, 26 (2), 315-320, (1996); A. Potthast et al.; J. Org. Chem., ( 60), S. 4320-4321, (1995).

Das erfindungsmäßige Verfahren hat hauptsächlich gegenüber diesen Verfahren den Vorteil der geringeren Kosten und der besseren Performance v.a. auch bezogen auf die Kosten.

Als eine Komponente des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) wird Enzym, bevorzugt Lipase aus z.B. Humicola lanuginosa, in einer Konzentration von 0.05 bis



5 mg pro 10 mmolar Substrat, bevorzugt 0.05 mg bis 3 mg pro 10 mmolar Substrat (entsprechend ca. 250 bis 15000 IU) eingesetzt (1 IU hydrolysiert 1  $\mu$ Äquivalent Fettsäure von einem Triglycerid in 1h bei pH 7.7 und 37 ° C).

Vorzugsweise wird die Oxidationsreaktion durch das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis leichtem O<sub>2</sub>-Überdruck und in einem pH-Bereich von 2 bis 11, vorzugsweise pH 3-9, bei einer Temperatur von 20 bis 95°C, vorzugsweise 40 - 95°C, und einer Substratkonzentration von 5 bis 100 mmolar, bevorzugt bei einer Substratkonzentration von 5 bis 50 mmolar durchgeführt.

Als weiterer Faktor wird als **Oxidationsmittel** vorzugsweise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (100ige Ware) in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro 10 mmolar Substrat vorzugsweise 0.05 bis 30 mg pro 10 mmolar Substrat zugesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Fettsäuren** in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub>, besonders bevorzugt C<sub>8</sub> bis C<sub>16</sub>, ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro 10 mmolar Substrat, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 30 mg pro 10 mmolar Substrat eingesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Ketone**, bevorzugt z.B. Benzophenone in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro 10 mmolar Substrat, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 30 mg pro 10 mmolar Substrat eingesetzt.

Im folgenden wird die Erfindung an Hand von Beispielen näher erläutert:

#### **Beispiel 11 (Oxidation von Benzylalkoholen zu Aldehyden)**

In einem 250 ml Reaktionsgefäß werden zu 50 ml 0.1 molarem Acetatpuffer pH 4.5 folgende Komponenten gegeben:

- 1) p-Methoxybenzylalkohol in 30 ml THF (im Gesamtvolumen 20 mmolar)
- 2) 2 mg Lipase aus *Humicola lanuginosa*
- 3) 5 mg Dodecansäure
- 4) 25mg Benzophenon

Die Reaktion wird gestartet durch Zugabe von 12.5 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%ige Ware) und für 12 bis 24 Std. fortgeführt.

Es werden dann 0.5 ml Reaktionslösung entnommen mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert und der Gehalt an p-Methoxybenzaldehyd mittels GC oder GCMS bestimmt.

Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4.

### Beispiel 12 (Oxidation von aromatischen Methylgruppen zu Aldehyden)

In einem 250 ml Reaktionsgefäß werden zu 50 ml 0.1 molarem Acetatpuffer pH 4.5 folgende Komponenten gegeben:

- 1) Toluol in 30 ml THF (im Gesamtvolumen 20 mmolar)
- 2) 2 mg Lipase aus *Humicola lanuginosa*
- 3) 5 mg Dodecansäure
- 4) 25mg Benzophenon

Die Reaktion wird gestartet durch Zugabe von 12.5 mg  $H_2O_2$  (30%ige Ware) und für 12 bis 24 Std. fortgeführt.

Es werden dann 0.5 ml Reaktionslösung entnommen mit  $CH_2Cl_2$  extrahiert und der Gehalt an Benzaldehyd mittels GC oder GCMS bestimmt.

Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4.

**Tabelle 4**

| Substrat                                 | Oxidiertes Substrat  | % Umsatz |
|--|----------------------|----------|
| p-Methoxybenzylalkohol<br>(Lipase)       | p-Methoxybenzaldehyd | 98       |
| p-Methoxybenzylalkohol<br>(ABTS/Laccase) | p-Methoxybenzaldehyd | 90       |
| Toluol<br>(Lipase)                       | Benzaldehyd          | 98       |
| Toluol<br>(ABTS/Laccase)                 | Benzaldehyd          | 92       |

### VI) Einsatz bei der Kohleverflüssigung

In den letzten Jahren wurde der Einsatz von Weißfäulepilzen bei der Verflüssigung von Braun- und Steinkohle untersucht und die generelle Möglichkeit bestätigt.

Die Patentanmeldungen WO 94/ 29510 und WO 96/ 18770 haben ebenfalls die

generelle Möglichkeit des Einsatzes von pilzfreien Systemen mittels Oxidoreduktasen und speziellen Mediatoren aufgezeigt.

Überraschenderweise konnte auch für das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System (ECS) dessen Einsetzbarkeit zum „Verfüssigen“ des ligninähnlichen dreidimensionalen Netzwerks von polycyclischen, aromatischen Ringsystemen von Braun- oder Steinkohle nachgewiesen werden.

Als eine Komponente des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) wird Enzym, bevorzugt Lipase aus z.B. *Humicola lanuginosa*, in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g atro gemahlener Braunkohle, bevorzugt 0.05 mg bis 10 mg Enzym pro g Kohle (entsprechend ca. 250 bis 50000 IU) eingesetzt (1 IU hydrolysiert 1  $\mu$ Äquivalent Fettsäure von einem Triglycerid in 1h bei pH 7.7 und 37 ° C).

zugswise wird Behandlung der Kohle durch das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis leichtem O<sub>2</sub>-Überdruck und in einem pH-Bereich von 2 bis 11, vorzugsweise pH 3-9, bei einer Temperatur von 20 bis 95°C, vorzugsweise 40 - 95°C, und einer Stoffdichte von 0,5 bis 40 % durchgeführt.

Ein für den Einsatz von Enzymen ungewöhnlicher und überraschender Befund ist, daß beim Einsatz des erfindungsgemäßen Enzym-Komponenten-Systems eine Steigerung der Stoffdichte eine erhebliche Steigerung der Performance ermöglicht.

Aus ökonomischen Gründen bevorzugt wird ein erfindungsgemäßes Verfahren bei Stoffdichten von 4 bis 35 %, besonders bevorzugt 4 bis 15 % durchgeführt.

weiterer Faktor wird als **Oxidationsmittel** vorzugsweise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro g Kohle (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 50 mg pro g Kohle zugesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Fettsäuren** in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub>, besonders bevorzugt C<sub>8</sub> bis C<sub>16</sub>, ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro g Kohle, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro g Kohle eingesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Ketone**, bevorzugt z.B. Benzophenone in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro g Kohle, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro g Kohle eingesetzt.

Die Erfindung ist im folgenden Beispiel näher erläutert:

### **Beispiel 13**

#### **Enzymatische Kohleverflüssigung**

5 g atro Braunkohle oder Steinkohle (Partikelgröße ca. 200 bis 500  $\mu$ ) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 5mg Tetradecansäure, 25 mg Benzophenon und 12.5 mg  $H_2O_2$  (30%ige Ware) pro g Kohle unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit Schwefelsäure und/oder Natronlauge so eingestellt, daß nach Zugabe der Kohle und des Enzyms pH 8 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit 10 mg **Lipase** von *Humicola lanuginosa* versetzt (100000IU).

Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 45 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe der Kohle wird für 2 min gemixt.

Danach wird der Stoff in ein auf 45°C vorgeheiztes Reaktionsgefäß gegeben und unter Normaldruck für 1 - 4 Stunden inkubiert.

Danach wird die entsprechend Konsistenz-veränderte Kohle aus dem Reaktionsgefäß entnommen.

### **VII) Einsatz als Bleichmittel in Waschmitteln**

Beim Einsatz des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS)

als Bleichmittel in Waschmitteln wird als eine Komponente

Enzym, bevorzugt Lipase aus z.B. *Humicola lanuginosa*, in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro 100 ml Waschlösung, bevorzugt 0.05 mg bis 10 mg Enzym pro 100 ml Waschlösung (entsprechend ca. 250 bis 100000 IU pro 100 ml Waschlösung) eingesetzt (1 IU hydrolysiert 1  $\mu$ Aquivalent Fettsäure von einem Triglycerid in 1h bei pH 7.7 und 37 ° C).

Vorzugsweise wird die Bleiche durch das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck in einem pH-Bereich von 2 bis 12, vorzugsweise pH 3-10, bei einer Temperatur von 20 bis 95°C, vorzugsweise 30 - 95°C durchgeführt.

Als weiterer Faktor wird als **Oxidationsmittel** vorzugsweise  $H_2O_2$  in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro 100 ml Waschlösung (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 20 mg pro 100 ml Waschlösung eingesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Fettsäuren** in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt  $C_6$  bis  $C_{26}$ , besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$ , ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro 100 ml Waschlösung, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro 100 ml Waschlösung eingesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Ketone**, bevorzugt z.B. Benzophenone in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro 100 ml Waschlösung, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro Waschlösung eingesetzt.

### Weitere Komponenten

Zusätzlich kann das Bleichsystem phenolische Verbindungen und/oder nicht phenolische Verbindungen mit einem oder mehreren Benzolkernen enthalten. Neben den oben erfindungsmäßig genannten Oxidationsmitteln sind besonders bevorzugt: Luft, Sauerstoff,  $H_2O_2$ , organische Peroxide, Natriumperborat und/oder Natriumpercarbonat.

Sauerstoff kann auch durch  $H_2O_2$  + Katalase o.ä. Systeme in situ generiert werden oder  $H_2O$ , aus GOD + Glucose o.ä. Systeme "in situ" generiert werden.

Bevorzugt wird ferner ein kationenbildendes Metallsalze enthaltendes Mehrkomponentenbleichsystem. Als Kationen werden bevorzugt  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Mn^{3+}$ ,  $Mn^{4+}$ ,  $Cu^+$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ti^{3+}$ ,  $Ce^{4+}$ ,  $Mg^{2+}$  und  $Al^{3+}$  verwendet.

Ferner kann das Bleichsystem zusätzlich Polysaccharide und/oder Proteine enthalten. Als Polysaccharide kommen Glucane, Mannane, Dextrane, Lävane, Pektine, Alginate oder Pflanzengummi und /oder eigene von den Pilzen gebildete oder in der Mischkultur mit Hefen produzierte Polysaccharide in Betracht. Als Proteine sind Gelantine, Albumin u.a. einsetzbar.

Hinzukommen können Einfachzucker, Oligomerzucker, Aminosäuren, PEG, Polyethylenoxide, Polyethylenimine und Polydimethylsiloxane.

## Verwendung des Mehrkomponentensystems

Verwendung finden kann das erfindungsgemäße Mehrkomponentenbleichsystem in Kombination mit an sich bekannten waschaktiven Waschmittelbestandteilen bzw. Waschmitteladditiven.

Die Erfindung wird an Hand der nachfolgenden Beispiele näher erläutert:

### Beispiel 14

Einfluß des ECS auf teebeschmutzte Standardwollappen (BC 3)

In 100 ml Waschlösung (im 300 ml Erlenmeyerkolben) wird je ein Stofflappen (5x5 cm) bei 40 ° C für 40 min unter Reziprok-Schütteln (120 rpm) inkubiert.

Vor Inkubationsbeginn wird die Waschlösung einer zehnminütigen Temperaturanpassung unterzogen.

Waschlösung wird mit STW (Standard Tap Water) bei 14 ° dH angesetzt.

Enzymdosage werden 2.5 mg Lipase von *Humicola lanuginosa* / 100 ml  
2.5 mg Tetradecansäure / 100 ml, 12,5 mg Benzophenon / 100 ml und 6.5 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%ige Ware eingesetzt.

Nach Abgießen der „Waschlauge“ wird mit kaltem, starken Wasserstrahl 3x aufgefüllt und abgegossen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt.

### Beispiel 15

Einfluß des ECS (Amidase) auf teebeschmutzte Standardwollappen (BC 3)

In 100 ml Waschlösung (im 300 ml Erlenmeyerkolben) wird je ein Stofflappen (5x5 cm) bei 40 ° C für 40 min unter Reziprok-Schütteln (120 rpm) inkubiert.

Vor Inkubationsbeginn wird die Waschlösung einer zehnminütigen Temperaturanpassung unterzogen.

Die Waschlösung wird mit STW (Standard Tap Water) bei 14 ° dH angesetzt.

Enzymdosage werden 1000 IU Amidase / 100 ml,  
= Umsatz von 1 µmol Acetamid und Hydroxylamin zu Acetohydroxamsäure pro min bei pH 7.2 und 37 °C)

2.5 mg Tetradecansäure / 100 ml, 12,5 mg Benzophenon / 100 ml und 6.5 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%ige Ware eingesetzt.

Nach Abgießen der „Waschlauge“ wird mit kaltem, starken Wasserstrahl 3x aufgefüllt und abgegossen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5

|                                   | pH   | Weißegrad | Helligkeitsgrad |
|-----------------------------------|------|-----------|-----------------|
| STW Nullwert                      | 4.5  | 2.55      | 2.3             |
| Vollwaschmittel                   | 10.1 | 8.9       | 6.15            |
| STW + ECS (Lipase)                | 8.5  | 7.5       | 7.2             |
| STW + ECS (Amidase)               | 8    | 6.9       | 6.3             |
| Flüssigwaschmittel + ECS (Lipase) | 8.5  | 8.5       | 8.0             |

**Vergleichsversuch:**

**Flüssigwaschmittel + Laccase+  
HOBT (Bedingungen wie unter  
PCT/EP 96/ 02658; PCT/EP/94/  
/01967**

**5                      6.5                      6.0**

**VII) Einsatz in der Bleiche/Entfärbung von Textilgeweben**

Als eine Komponente des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) beim Einsatz in der Bleiche/Entfärbung von Textilgeweben wird

Enzym, bevorzugt Lipase aus z.B. *Humicola lanuginosa*, in einer Konzentration von 0.05 bis 10 mg pro g Denim, bevorzugt 0.05 mg bis 5 mg Enzym pro g Denim (entsprechend ca. 250 bis 25000 IU pro g Denim) eingesetzt ( 1 IU hydrolysiert 1  $\mu$ Äquivalent Fettsäure von einem Triglycerid in 1h bei pH 7.7 und 37 ° C).

Vorzugsweise wird die Bleiche/Entfärbung durch das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck und in einem pH-Bereich von 1, vorzugsweise pH 3-9, bei einer Temperatur von 20 bis 95°C, vorzugsweise 40 - 95°C, und einer Stoffdichte von 0,5 bis 40 % durchgeführt.

Ein für den Einsatz von Enzymen ungewöhnlicher und überraschender Befund ist, daß beim Einsatz des erfindungsgemäßen Enzym-Komponenten-Systems eine Steigerung der Stoffdichte eine erhebliche Steigerung der Performance ermöglicht.

Aus ökonomischen Gründen bevorzugt wird ein erfindungsgemäßes Verfahren bei Stoffdichten von 4 bis 35 %, besonders bevorzugt 4 bis 15 % durchgeführt.

Als weiterer Faktor wird als **Oxidationsmittel** vorzugsweise  $H_2O_2$  in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Denim (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 10 mg pro g Denim zugesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Fettsäuren** in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt  $C_6$  bis  $C_{26}$ , besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$ , ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Denim, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 10 mg pro g Denim eingesetzt.

Als weiterer Faktor werden **Ketone**, bevorzugt z.B. Benzophenone in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Denim, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 10 mg pro g Denim eingesetzt.

Die Erfindung wird an Hand der folgenden Beispiele näher erläutert:

### Beispiel 16

#### **Bleiche mit ECS + Lipase**

In einen 200 ml Erlenmeyerkolben wird 1g Denim-gewebe gegeben (Stoffdichte 2%). Der pH- Wert der Lösung (Leitungswasser), die nach Zugabe aller Komponenten 50 ml umfaßt, wird auf pH 6 mit 0.5 n  $H_2SO_4$  voreingestellt.

Es werden 1 mg Lipase aus Humicola lanuginosa, 0.5 mg Tetradecansäure, 1 mg Benzophenon und 2.5 mg  $H_2O_2$  (30%ige Ware) pro g Denim zugegeben.

Der Versuch wird im Schüttelwasserbad (200rpm), bei 45 °C und einer Reaktionsdauer von 45 min ausgeführt. Anschließend wird mit Leitungswasser gewaschen und das Gewebestück an der Luft getrocknet. Dann wird die Helligkeit mit einem Elrephogerät bestimmt.

Die entsprechenden Werte sind Tabelle 6 zu entnehmen

### Beispiel 17

#### **ie mit ECS + Amidase**

In einen 200 ml Erlenmeyerkolben wird 1g Denim-gewebe gegeben (Stoffdichte 2%).

Der pH- Wert der Lösung (Leitungswasser), die nach Zugabe aller Komponenten 50 ml umfaßt, wird auf pH 6 mit 0.5 n  $H_2SO_4$  voreingestellt.

Es werden 200 IU Amidase aus Pseudomonas aeruginosa (Sigma A 6691), 0.5mg Tetradecansäure, 1mg Benzophenon und 2.5 mg  $H_2O_2$  (30 %ige Ware) pro g Denim zugegeben.

Der Versuch wird im Schüttelwasserbad (200rpm), bei 45 °C und einer Reaktionsdauer von 45 min ausgeführt. Anschließend wird mit Leitungswasser gewaschen und das Gewebestück an der Luft getrocknet. Dann wird die Helligkeit mit einem Elrephogerät bestimmt.

Die entsprechenden Werte sind Tabelle 6 zu entnehmen



**Tabelle 6**

| <b>System</b>   | <b>pH</b>  | <b>ISO Weiße</b> |
|---|------------|------------------|
| <b>unbehandelte Probe</b>                               | ----       | <b>4.5</b>       |
| <b>Laccase +<br/>Violursäure<br/>(Vergleichssystem)</b> | <b>3.5</b> | <b>13.5</b>      |
| <b>ECS System<br/>ase</b>                               | <b>6.0</b> | <b>16.9</b>      |
| <b>ECS System<br/>+ Amidase</b>                         | <b>6.0</b> | <b>14.5</b>      |
| <b>Hypochlorid</b>                                      | <b>4.5</b> | ---- (nd.)       |

#### **Zusatz von weiteren Faktoren zum erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten- n (ECS)**

Für alle genannten Applikationen können dem Enzym-Komponenten-System (ECS) die aus den Anmeldungen DE 197 19 838.4 und DE 197 19 857.0 bzw. DE 197 19 898.8 bekannten Mehr- bzw. Multikomponentensysteme zugesetzt werden, enthaltend:

**a) mindestens einen Oxidationskatalysator**, insbesondere bevorzugt Enzyme wie Oxidoreduktasen der Klassen 1.1.1. bis 1.97 gemäß Internationaler Enzym-Nomenklatur: Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (Enzyme Nomenclature, Academic Press, Inc., 1992, S. 24-154), besonders bevorzugt:

Cellobiose: oxigen- 1-oxidoreductase (Cellobiose oxidase) **1.1.3.25**, Cellobiose: quinone -1-

oxidoreductase 1.1.5.1, Bilirubinoxidase 1.3.3.5, Cytochromoxidase 1.9.3, Oxigenasen, Lipoxigenasen 1.13, 1.14, Superoxid-dismutase 1.15.11, Ferrioxidase, z.B. Ceruloplasmin 1.16.3.1, und insbesondere bevorzugt Enzyme der Klasse

1.10, die auf Biphenole und verwandte Verbindungen wirken. Sie katalysieren die Oxidation von Biphenolen und Ascorbaten. Als Akzeptoren fungieren  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$  (1.10.1), Cytochrome (1.10.2), Sauerstoff (1.10.3) oder andere (1.10.99). Von diesen wiederum sind Enzyme der Klasse 1.10.3 mit Sauerstoff ( $\text{O}_2$ ) als Akzeptor besonders bevorzugt.

Von den Enzymen dieser Klasse sind insbesondere die Enzyme **Catechol Oxidase (Tyrosinase) (1.10.3.1)**, **L-Ascorbate Oxidase (1.10.3.3)**, **O-Aminophenol Oxidase (1.10.3.4)** und **Laccase (Benzoldiol:Oxygen Oxidoreduktase) (1.10.3.2)** bevorzugt, wobei die **Laccasen (Benzoldiol:Oxygen reduktase) (1.10.3.2.)** insbesondere bevorzugt sind.

Weiterhin besonders bevorzugt sind die Enzyme der Gruppe 1.11, die auf ein Peroxid als Akzeptor wirken. Diese einzige Subklasse (1.11.1) enthält die Peroxidasen. Ganz besonders bevorzugt sind hier die **Cytochrom-C Peroxidasen (1.11.1.5)**, **Catalase (1.11.1.6)**, die **Peroxidase (1.11.1.7)** die **Iodid-Peroxidase (1.11.1.8)**, die **Glutathione-Peroxidase (1.11.1.9)**, die **Chlorid Peroxidase (1.11.1.10)**, die **L-Ascorbat-Peroxidase (1.11.1.11)**, die **Phospholipid-Hydroperoxid-Glutathione-Peroxidase (1.11.1.12)**, die **Mangan Peroxidase (1.11.1.13)**, die **Diarylpropan-Peroxidase (Ligninase, Lignin Peroxidase) (1.11.1.14)**.

ndestens ein geeignetes Oxidationsmittel ,

- c, ggf. mindestens einen Mediator ausgewählt aus der Gruppe der Hydroxylamine, Hydroxylaminderivate, Hydroxamsäuren, Hydroxamsäurederivate, der aliphatischen, cycloaliphatischen, heterocyclischen oder aromatischen Verbindungen, die mindestens eine N-Hydroxy-, Oxim-, N-Oxi-, oder N,N'-Dioxi-Funktion enthalten,
- d) ggf. mindestens einen Mediator aus der Gruppe der Amide wie z.B. Hydrazide oder 1,2,4- Triazolidin- 3,5-dione (Urazole),
- e) ggf. mindestens einen Mediator aus der Gruppe der Imide wie z.B. Hydantoine,
- f) ggf. mindestens einen Mediator aus der Gruppe der Oxokohlenstoffe,

g) ggf. mindestens einen Comediator ausgewählt aus der Gruppe der  
 • arylsubstituierten Alkohole, Carbonylverbindungen, aliphatischen Ether, Phenolether und/oder Olefine(Alkene),

h) ggf. mindestens einen Comediator ausgewählt aus der Gruppe der oben genannten Mediatoren des NO-, NOH-, HRN-OH-Typs, der Hydrazide, Urazole, Hydantoine, Oxokohlenstoffe oder kationradikalbildende Substanzen des Phenothiazintyps, des Phenoxazintyps oder des (R=N-N=R)-Typs (z.B. ABTS) oder von arylsubstituierten Alkoholen (Nichtphenole) wie z.B.:

Veratrylalkohol, oder von Phenolabkömmlingen wie p-Hydroxycinnamic acid, 2,4-Dichlorphenol, p-Hydroxybenzol-Sulfonat, Vanillin (4-Hydroxy-3-Methoxy-benzaldehyd), p-Hydroxybenzoesäure, 5-Amino-2-Hydroxy-zoesäure (5-Aminosalycilsäure) oder Radikalkationverbindungen nach „Wurster“ (Lit.: Angewandte Chemie, 91, 1979, S. 982-997; Chem. Unserer Zeit, 12, 1978, S. 89-98; Römpp Chemie Lexikon ,9. Auflage, 1995) oder Radikalanionen,

i) ggfs. eine geringe Menge mindestens eines freien Amins eines jeweils eingesetzten NO-/NOH-/NRH-OH- Mediators.

Dabei ist es wesentlich für die Steigerung der Performance der Enzym/Mediatorssysteme durch die entsprechenden Comediatoren, daß das Mediator/ Comediator-Verhältnis 5000:1 bis 5:1 besonders bevorzugt 500:1 bis 5:1 beträgt, während das Verhältnis beim gleichzeitigen Einsatz von mehreren Mediatoren und Comediatoren innerhalb dieser Mediator- bzw. Comediator-  
 trationen von den jeweiligen Kombinationen abhängt.

Als Oxidationsmittel nach b) werden bevorzugt beispielsweise Luft, Sauerstoff Ozon, Peroxidverbindungen wie  $H_2O_2$ , organische Peroxide, Persäuren wie die Peressigsäure, Perameisensäure, Perschwefelsäure, Persalpetersäure, Metachlorperoxidbenzoesäure, Perchlorsäure, Perverbindungen wie Perborate, Percarbonate, Persulfate oder Sauerstoffspezies und deren Radikale wie OH-Radikal, OOH-Radikal,  $OH^+$ -Radikal, Superoxid ( $O_2^-$ ), Dioxygenyl- Kation ( $O_2^+$ ), Singulett-sauerstoff, Ozonid ( $O_3^-$ ), Dioxirane, Dioxitane oder Fremy Radikal eingesetzt.

Die entsprechenden bevorzugten Mediator (Comediator)- Substanzen nach den Formeln I bis XXII und die entsprechenden Mediator/ Comediatorverbindungen sind in Appendix I und in Appendix II Comediatoren (Mediatoren) dargestellt.

Im folgenden ist an Hand eines Beispiels für die enzymatische Zellstoffbleiche die für manche Zellstoffsorten mögliche Performanceverbesserung durch die Kombination des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems (ECS) und der oben beschriebenen erweiterten Mehrkomponentensysteme bzw. Multikomponentensystem dargestellt:

### Beispiel 18

(Enzyme: Lipase/Laccase)

#### **Enzymatische Bleiche von Softwood (Sulfatzellstoff)**

5 g atro Zellstoff (Softwood O<sub>2</sub> delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 1mg Tetradecansäure, 5 mg Benzophenon und 2.5 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%ige Ware), 37 µ Mol Violursäure + 0.37 µMol 4-tert.-Butylurazol pro g Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit 0,5 mol/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lsg. so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 5 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit 5 mg **Lipase** von *Humicola lanuginosa* (ca. 25000IU) und mit der Menge **Laccase** von *Trametes versicolor* versetzt, daß eine Aktivität von 15 U (1 U = Umsatz von 1 µmol ABTS/min/ml Enzym) pro g Zellstoff resultiert.

Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt.

Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigknetter gemixt.

Danach wird der Stoff in ein auf 45°C vorgeheiztes Reaktionsgefäß gegeben und unter Normaldruck für 1 - 4 Stunden inkubiert.

Nach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30 µm) gewaschen und 1 Stunde bei 60°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert.

Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 gezeigt.

### Beispiel 19

(Enzyme: Lipase/Peroxidase)

#### **Enzymatische Bleiche von Softwood (Sulfatzellstoff)**

5 g atro Zellstoff (Softwood O<sub>2</sub> delignifiziert), Stoffdichte 30% (ca. 17 g feucht) werden zu folgenden Lösungen gegeben:

A) 20 ml Leitungswasser werden mit 1mg Tetradecansäure, 5 mg Benzophenon und 2.5 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30%ige Ware), 37 µ Mol Violursäure + 0.37 µMol 4-tert.-Butylurazol pro g Zellstoff unter Rühren versetzt, der pH-Wert mit 0,5 mol/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lsg. so eingestellt, daß nach Zugabe des Zellstoffs und des Enzyms pH 7 resultiert.

B) 5 ml Leitungswasser werden mit 5 mg **Lipase** von *Humicola lanuginosa* (ca. 25000IU) und 0.1 mg **Peroxidase** (Horseradish) pro g Zellstoff versetzt. Die Lösungen A und B werden zusammen gegeben und auf 33 ml aufgefüllt. Nach Zugabe des Zellstoffes wird für 2 min mit einem Teigkneteter gemixt. Danach wird der Stoff in ein auf 45°C vorgeheiztes Reaktionsgefäß gegeben und unter Normaldruck für 1 - 4 Stunden inkubiert. Danach wird der Stoff über einem Nylonsieb (30 µm) gewaschen und 1 Stunde bei 60°C, 2% Stoffdichte und 8% NaOH pro g Zellstoff extrahiert. Nach erneuter Wäsche des Stoffes wird die Kappazahl bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 gezeigt:

Tabelle 7

| System   | Mediat./Comed.<br>(µMol/ g Zellstoff) | (%) DELIG.<br>(Lipase/Laccase) | (%) DELIG.<br>(Lipase/Peroxidase) |
|--|---------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| ECS + <b>Lipase</b><br>(+ <b>Laccase</b> +Violur-<br>säure +Comediator*)     | 37µMol/0.37µMol                       | 44                             | ---                               |
| ECS + <b>Lipase</b><br>(+ <b>Peroxidase</b> +Violur-<br>säure + Comediator*) | 37 µMol/0.37µMol                      | ----                           | 38                                |
| <b>Laccase</b> + Violursäure<br>+ Comediator*                                | 37 µMol/0.37µMol                      | 27                             |                                   |
| <b>Peroxidase</b> + Violursäure<br>+ Comediator *                            | 37 µMol/0.37µMol                      |                                | 28                                |

\* Comediator = 4-tert.-Butylurazol

## Patentansprüche

**1. Enzym-Komponenten-System (ECS) als Oxidations- und Bleichsystem zur Herstellung von speziellen hochselektiven Oxidationsmitteln,**

**bestehend aus:**

- a) Systemkomponente 1): mindestens einer Hydrolase aus der Enzymklasse 3.1, 3.1.1, 3.1.2, 3.1.3, 3.1.4 oder 3.1.7 und/oder mindestens einer Hydrolase aus der Enzymklasse 3.5, 3.5.1, 3.5.2, 3.5.3, 3.5.4, 3.5.5 oder 3.5.99,**
- b) Systemkomponente 2): mindestens einer Fettsäure, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub> ( gesättigt, einfach- oder mehrfach ungesättigt),**
- c) Systemkomponente 3): mindestens einem Precursor-Oxidationsmittel zur Reaktion mit den Enzymen,**
- d) Systemkomponente 4): mindestens einem Keton aus der Gruppe der Carbonylverbindungen.**

**2. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 1) Enzyme aus der Klasse 3.1, 3.1.1, 3.1.2, 3.1.3, 3.1.4, oder 3.1.7 bevorzugt aus der Klasse 3.1.1.3 Lipasen (Triacylglycerin Lipase, Triglycerinacylhydrolasen eingesetzt werden.**

**3. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 und 2 dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 1) Enzyme aus der Klasse 3.5, 3.5.1, 3.5.2, 3.5.3, 3.5.4, 3.5.5 oder 3.5.99 bevorzugt aus der Klasse 3.5.1.4 Amidasen und/oder 3.5.5.1 Nitrilasen eingesetzt werden.**

**4. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Herstellung der Enzyme der Klasse 3.1.1.3 (Lipasen) aus Organismen wie *Candida antarctica*, *Candida rugosa*, *Candida lipolytica*, *Candida cylindracea*, *Candida spec.*, *Geotrichum candidum*, *Humicola lanuginosa*, *Penicillium cambertii*, *Penicillium roquefortii*, *Aspergillus spec.*, *Mucor javanicus*, *Mucor mehei*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus niveus*, *Rhizopus delamar*, *Rhizopus spec.*, *Chromobacterium viscosum*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas spec.*, aus Weizenkeimlingen oder Pankreas (Schwein oder andere Quellen) u.a. erfolgt.**

5. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 und 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Herstellung der Enzyme der Klasse 3.5.1.4 und 3.5.5.1 aus Organismen wie *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas acidovorans*, *Pseudomonas spec.*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus spec.*, *Brevibacterium spec.*, *Streptococcus pneumoniae*, *Rhodococcus spec.* u.a. erfolgt.

6. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß es Enzyme aus Pilzen, Bakterien, Tieren oder Pflanzen, die aus natürlichen oder gentechnisch veränderten Organismen gewonnen werden, enthält.

7. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß als Katalysatoren modifizierte Enzyme, Enzymbestandteile, prosthetische Gruppen oder Substanzen eingesetzt werden können.

8. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß es als **Systemkomponente 2)** eine oder mehrere, gesättigte, einfach- und mehrfach ungesättigte Fettsäuren, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub> wie folgt enthält:

**1) gesättigte Fettsäuren**

|                 |                   |
|-----------------|-------------------|
| Butansäure      | (Buttersäure)     |
| Pentansäure     | (Valeriansäure)   |
| Hexansäure      | (Capronsäure)     |
| Heptansäure     | (Önanthsäure)     |
| Octansäure      | (Caprylsäure)     |
| Nonansäure      | (Pelargonsäure)   |
| Decansäure      | (Caprinsäure)     |
| Undecansäure    |                   |
| Dodecansäure    | (Laurinsäure)     |
| Tridecansäure   |                   |
| Tetradecansäure | (Myristinsäure)   |
| Pentadecansäure |                   |
| Hexadecansäure  | (Palmitinsäure)   |
| Heptadecansäure |                   |
| Octadecansäure  | (Stearinsäure)    |
| Nonadecansäure  |                   |
| Eicosansäure    | (Arachinsäure)    |
| Heneicosansäure |                   |
| Docosansäure    | (Behensäure)      |
| Tricosansäure   |                   |
| Tetracosansäure | (Lignocerinsäure) |
| Pentacosansäure |                   |
| Hexacosansäure  | (Cerotinsäure)    |

Octacosansäure  
Triacotansäure

(Melissinsäure)

## 2) ungesättigten Fettsäuren

10-Udecensäure  
9c-Dodecensäure  
9c-Tetradecensäure  
9c-Hexadecensäure  
6c-Octadecensäure  
6t-Octoddecensäure  
9c-Octoddecensäure  
9t-Octoddecensäure  
9c,12c-Octadecadiensäure  
9t,12t-Octadecadiensäure  
9c,12c,15c-Octadecatriensäure  
9t,11t,13t-Octadecatriensäure  
9c,11t,13t-Octadecatriensäure  
10c-Docosensäure  
11c,14-Eicosatetraensäure  
13c-Docosensäure  
13t-Docosensäure  
4,8,12,15,19-Docosapentaensäure

(Lauroleinsäure)  
(Myristoleinsäure)  
(Palmitoleinsäure)  
(Petroselinsäure)  
(Petroselaidinsäure)  
(Ölsäure)  
(Elaidinsäure)  
(Linolsäure)  
(Linolaidinsäure)  
(Linolensäure)  
( $\alpha$ -Eläostearinsäure)  
( $\beta$ -Eläostearinsäure)  
(Gadoleinsäure)  
(Arachidonsäure)  
(Erucasäure)  
(Brassidinsäure)  
(Clupanodonsäure)

## 3) mehrfach ungesättigte Fettsäuren

9,12-Octadecadiensäure  
9,12,15-Octadecatriensäure  
5,9,12-Octadecatriensäure  
9,11,13-Octadecatriensäure  
9,11,13,15-Octadecatetraensäure  
5,11,14-Eicostriensäure  
5,8,11,14-Eicosatetraensäure  
4,8,11,15,18-Eicosapentaensäure  
11,15,19-Decosapentaensäure  
4,8,11,15,18,21-Tetracosahexaensäure

(Linolsäure)  
(Linolensäure)  
(Eläostearinsäure)  
(Parinarsäure)  
(Arachidonsäure)  
(Clupanodonsäure)  
(Nisinsäure)

9. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß es als Systemkomponente 2) bevorzugt Tetradecansäure (Myristinsäure) und die Dodecansäure (Laurinsäure) enthält.

10. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß es als Systemkomponente 3) mindestens ein Precursor-Oxidationsmittel wie: organische Peroxide, wie 3-Chlorperoxibenzoessäure, Monoperoxyphthalsäure- Mg-Salz,



Di-tert.-butylperoxid, Cumolhydroperoxid, Lauroylperoxid, Chloroperoxybenzoesäure, Dicumylperoxid, Ethymethyl-ke-ton-peroxid, Benzoylperoxid, Diperoxidodecandionsäure-Na-Salz, u.a. und Perverbindungen, wie Perborate, Persulphate, Percarbonate, Perphosphate, Percarbamide, Perchlorate u.a. enthält.

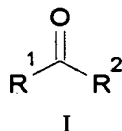
**11. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß es als Systemkomponente 3) bevorzugt  $H_2O_2$  enthält.**

**12. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 10 und 11, dadurch gekennzeichnet, daß es als Systemkomponente 3)  $H_2O_2$  enthält, welches mittels Glukose und GOD in situ generiert wird.**

**13. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß es als Systemkomponente 3) neben Perverbindungen Beichaktivatoren wie TAED (Tetraacetylethylendiamin), TAGU (Tetraacetylglycoluril) und iso-NOBS (Natrium-p-isooctanoyloxybenzolsulfonat) enthalten kann.**

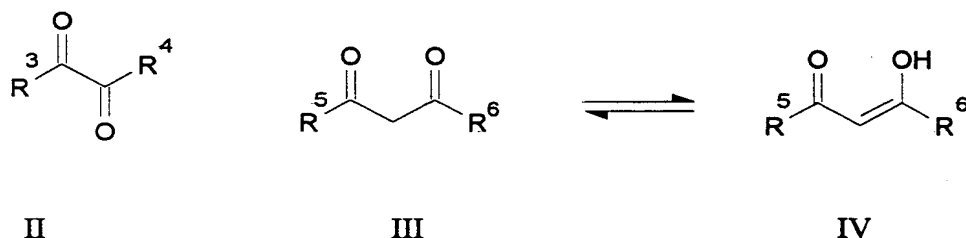
**14. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß es als Systemkomponente 3) neben den Peroxiden und/oder Perverbindungen Luft oder Sauerstoff bei Normaldruck oder leichtem Überdruck bis zu 2 bar enthält.**

**15. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß es als Systemkomponente 4) mindestens ein Keton der allgemeinen Formel I enthält:**



Die Reste  $R^1$  und  $R^2$  können gleich oder ungleich sein und aliphatische oder aromatische Gruppen darstellen. Weiterhin können die Reste  $R^1$  und  $R^2$  einen Ring bilden, der neben Kohlenstoff auch Heteroatome wie Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel enthalten kann.

16. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß es als **Systemkomponente 4)** 1,2- Diketone der (Formel II) und 1,3-Diketone der (Formel III) bzw. Polyketone (Polyketide) sowie die tautomeren Enole (Formel IV) enthält,



wobei die Reste R<sup>3</sup> bis R<sup>6</sup> jeweils wieder gleich oder ungleich sein können und aliphatische oder aromatische Gruppen darstellen können. Weiterhin können die Reste R<sup>3</sup> und R<sup>4</sup> und die Reste R<sup>5</sup> und R<sup>6</sup> einen gemeinsamen Ring bilden, der neben Kohlenstoff auch Heteroatome wie Stickstoff, Sauerstoff oder Schwefel enthalten kann.

17. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß es als **Systemkomponente 4)** neben allgemeinen Carbonylverbindungen Ketone wie allgemein Hydroxyketone,  $\alpha,\beta$  - ungesättigte Ketone, Oxicarbonsäuren, Chinone und Halogenketone enthält.

18. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß es als **Systemkomponente 4)** folgende Verbindungen enthält:

Aceton, Methylethylketon, Diethylketon, Methyl-n-butylketon, Methyl-isobutylketon, Cyclohexanon, Cyclopentanon, 2-Methylcyclohexanon, 3-Methylcyclohexanon, Methylcyclohexanon, Dihydroxyaceton, Diacetyl (Monohydrazon), Diacetyl (Dihydrazon), Acetophenon, p-Hydroxyacetophenon, 1-Phenylbutan-3-on, Pentan-3-on, Heptan-4-on, Nonan-2-on, Cycloheptanon, Cyclooctanon, Cyclodecanon, Cyclododecanon, Cyclohexanon, 2-Methylcyclohexanon, 3-Methylcyclohexanon, 4-Methylcyclohexanon, Cyclopentanon, 2-Methylcyclopentanon, 3-Methylcyclopentanon, Dimethylketon, Ethylpropylketon, Methylamylketon, Acethylaceton, Pinakolin, Methyl-isopropylketon, Methyl-isoamylketon, Ethylamylketon, Diisopropylketon, Diisobutylketon, Methyl-vinylketon, Methyl-isopropenylketon, Mesityloxid, Isophoron, Hydroxyaceton, Methoxyaceton, 2,3-Pentandion, 2,3-Hexandion, Phenylaceton, Propiophenon, Benzophenon, Benzoin, Benzil, 4,4'-Dimethoxybenzil,

4'-Methoxyacetophenon, 3'-Methoxyacetophenon, O-Ethylbenzoin, (2-Methoxyphenyl)-aceton,  
 (4-Methoxyphenyl)-aceton, Methoxy-2-propanon, Glyoxylsäure, Benzylglyoxylat, Benzylaceton,  
 Benzylmethylketon, Cyclohexylmethylketon, 2-Decanon, Dicyclohexylketon, Diethylketon,  
 Diisopropylketon, 3,3-Dimethyl-2-butanon, Isobutylmethylketon, Isopropylmethylketon,  
 2-Methyl-3-heptanon, 5-Methyl-3-heptanon, 6-Methyl-5-hepten-2-on, 5-Methyl-2-hexanon,  
 2-Nonaon, 3-Nonaon, 5-Nonaon, 2-Octanon, 3-Octanon, 2-Undecanon, 1,3-Dichloraceton,  
 1-Hydroxy-2-butanon, 3-Hydroxy-2-butanon, 4-Hydroxy-4-methyl-2-pentanon, 2-Adamantanon,  
 Anthron, Bicyclo(3.2.0)hept-2-en-6-on, *cis*-Bicyclo(3.3.0)octan-3,7-dion, (1S)-(-)-Campher,  
 p-Chloranil, Cyclobutanon, Cyclododecanon, 1,3-Cyclohexandion,  
 1,4-Cyclohexandionmonoethylenketal, Dibenzosuberone, Ethyl-4-oxocyclohexancarboxylat,  
 Fluoren-9-on, 1,3-Indandion, Methylcyclohexanon, Phenylcyclohexanon, 4-Propylcyclohexanon,  
 1,2,3,4-Tetrahydro-1-naphthalinon, 1,2,3,4-Tetrahydro-2-naphthalinon,  
 Trimethylcyclohexanon, 3-Acetoxy-2-cyclohexen-1-on,  
 Benzylidenaceton, (R)-(-)-Carvon, (S)-(-)-Carvon, Curcumin, 2-Cyclohexen-1-on, 2,3-Diphenyl-  
 2-cyclopropen-1-on, 2-Hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-on, Isophoron,  $\alpha$ -Jonon,  $\beta$ -Jonon,  
 3-Methoxy-2-cyclohexen-1-on, 3-Methyl-2-cyclopenten-1-on, 3-Methyl-3-penten-2-on,  
 Methylvinylketon, (R)-(+)-Pulegon, Tetraphenyl-2,4-cyclopentadien-1-on,  
 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexen-1,4-dion, 2-Acetylbenzoesäure, 1-Acetylnaphthalin,  
 2-Acetylnaphthalin, 3'-Aminoacetophenon, 4'-Aminoacetophenon, 4'-Cyclohexylacetophenon,  
 3',4'-Diacetoxyacetophenon, Diacetylbenzol, 2',4'-Dihydroxyacetophenon, 2',5'-Dihydroxy-  
 acetophenon, 2',6'-Dihydroxyacetophenon, 3,4-Dimethoxyacetophenon,  
 2'-Hydroxyacetophenon, 4'-Hydroxyacetophenon, 3'-Methoxyacetophenon, 4'-  
 Methoxyacetophenon, 2'-Methylacetophenon, 4'-Methylacetophenon, 2'-Nitroacetophenon,  
 4'-Nitroacetophenon, 4'-Phenylacetophenon, 3',4',5'-  
 Trimethoxyacetophenon, 4'-Aminopropiophenon, Benzoylaceton, Benzoylpropionsäure,  
 Benzylidenacetophenon, Cyclohexylphenylketon, Desoxybenzoin, 4',4'-Dimethoxybenzil, 1,3-  
 Diphenyl-1,3-propandion, O-Ethylbenzoin, Ethyl-benzoylacetat, Ethyl-(phenylglyoxylat), 4'-  
 Hydroxypropiophenon, 1,3-Indandion, 1-Indanon, Isopropylphenylketon, 6-Methoxy-1,2,3,4-  
 tetrahydro-naphthalin-1-on, Methyl-phenylglyoxylat, Phenylglyoxylonitril, 1-Phenyl-1,2-  
 propandion-2-oxim, Propiophenon, Valerophenon, 2-Acetyl- $\gamma$ -butyrolacton, 2-Acetylpyrrol, 1-  
 Benzylpiperidin-4-on, Dehydracetsäure, 3,4-Dihydro-4,4-dimethyl-2H-pyran-2-on, 1,4-Dihydro-  
 4-pyridinon, N-Ethoxycarbonyl-4-piperidinon, 2-Furylmethylketon, 5-Hydroxy-2-hydroxymethyl-  
 4H-pyran-4-on, 3-Hydroxy-2-methyl-4-pyranon, 3-Indolylmethylketon, Isatin, 1-Methyl-4-

piperidinon, Methyl-2-pyridylketon, Methyl-3-pyridylketon, Methyl-4-pyridylketon, Methyl-2-thienylketon, Phenyl-2-pyridylketon, Phenyl-4-pyridylketon, Tetrahydrofuran-2,4-dion, Tetrahydro-4H-pyran-4-on, 2,2,6,6-Tetramethyl-4-piperidon, Xanthon, Acenaphthenchinon, Brenztraubensäure, (1R)-(-)-Campherchinon, (1S)-(+)-Campherchinon, 3,5-Di-tert-butyl-o-benzochinon, 1,2-Dihydroxycyclobuten-3,4-dion, Ethyl-(2-amino-4-thiazolyl)-glyoxylat, Ethyl-(phenylglyoxylat), Ethylpyruvat, 2,3-Hexandion, 3,4-Hexandion, 3-Methyl-2-oxo-buttersäure, 3-Methyl-2-oxo-valeriansäure, 4-Methyl-2-oxo-valeriansäure, Methyl-phenylglyoxylat, 2-Oxobuttersäure, 2,3-Pentandion, 9,10-Phenanthrenchinon, Acetoacetanilid, 2-Acetyl- $\gamma$ -buttersäurelacton, 2-Acetylcyclopentanon, Allyl-acetoacetat, Benzoylacetone, ter-Butylacetoacetat, 1,3-Cyclopentandion, Diethyl-3-oxoglutarat, Dimethyl-acetylsuccinat, Dimethyl-3-oxoglutarat, 1,3-Diphenyl-1,3-propandion, Ethyl-acetoacetat, Ethyl-benzoylacetat, Ethyl-butyrylacetat, Ethyl-2-cyclohexancarboxylat, Ethyl-2-phenylacetoacetat, Methyl-acetoacetat, 2-Methyl-1,3-hexandion, 2-Methyl-1,3-cyclopentandion, Methyl-isobutyrylacetat, Methyl-3-oxopentanoat, Methylpivaloylacetat, 3-Oxoglutarsäure, Tetrahydrofuran-2,4-dion, 2,2,6,6-Tetramethyl-3,5-heptandion, 3-Benzoylpropionsäure, 1,4-Cyclohexandion, Dimethyl-acetylsuccinat, Ethyllävulinat, 2-Aminoanthrachinon, Anthrachinon, p-Benzochinon, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 1,8-Dihydroxyanthrachinon, 2-Ethylanthrachinon, Methyl-p-benzochinon, 1,4-Naphthochinon, Tetramethyl-p-benzochinon, 2,2-Dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion, 2-Benzoylbenzoesäure, 3-Benzoylpropionsäure, 5,6-Dimethoxyphthalaldehydsäure, Glyoxylsäure, Lävolsäure, Methyl-(trans-4-oxo-2-pentenoat), Phthalaldehydsäure, Terephthalaldehydsäure, Dibutylmaleinat, Dibuthylsuccinat, Dibutylphthalat, Dicyclohexylphthalat, Diethyl-acetamidomalonat, Diethyladipat, Diethyl-Benzylmalonat, Diethyl-butylmalonat, Diethyl-ethoxymethylen-malonat, Diethylethylmalonat, Diethylfumarat, Diethylglutarat, Diethyl-isopropylidenmalonat, Diethyl-maleinat, Diethylmalonat, Diethyl-methylmalonat, Diethyloxalat, Diethyl-3-oxoglutarat, Diethyl-phenylmalonat, Diethylphthalat, Diethyl-pimelat, Diethyl-sebacat, Diethyl-suberat, Diethyl-succinat, Diisobutylphthalat, Dimethyl-acethylendicarboxylat, Dimethyl-acetylsuccinat, Dimethyladipat, Dimethyl-2-aminoterephthalat, Dimethylfumarat, Dimethylglutaconat, Dimethylglutarat, Dimethylisophthalat, Dimethylmalonat, Dimethyl-methoxymalonat, Dimethyl-(methylensuccinat), Dimethyloxalat, Dimethyl-3-oxo-glutarat, Dimethylphthalat, Dimethylsuccinat, Dimethylterephthalat, Ethylenglycoldiacetat, Ethylenglycoldimethacrylat, Monoethylfumarat, Monoethylmalonat, Monoethyladipat, Monomethylphthalat, Monomethylpimelat, Monomethylterephthalat, 1,2-Propylenglycoldiacetat, Triethyl-methantricarboxylat, Trimethyl-1,2,3-propan-

tricarboxylat, 3-Acetoxy-2-cyclohexen-1-on, Allyl-acetoacetat, Allyl-(cyanacetat),  
 Benzylacetoacetat, tert-Butylacetoacetat, Butylcyanacetat, Chlorogensäure-Hemihydrat,  
 Cumarin-3-Carbonsäure, Diethyl-ethoxycarbonylmethanphosphonat, Dodecylgallat,  
 Dodecyl-3,4,5-trihydroxybenzoat, (2,3-Epoxypropyl)-methacrylat, (2-Ethoxyethyl)acetat,  
 Ethyl-(acetamidocyanacetat), Ethylacetoacetat, Ethyl-2-aminobenzoat, Ethyl-(3-aminopyrazol-4-  
 carboxylat), Ethyl-benzoxylacetat, Ethyl-butyrylacetat, Ethyl-cyanacetat, Ethyl-(2-cyan-3-  
 ethoxyacrylat), Ethyl-cyanformiat, Ethyl-2-cyanpropionat, Ethyl-(3,3-diethoxypropionat),  
 Ethyl-1,3-dithian-2-carboxylat, Ethyl-(2-ethoxyacetat), Ethyl-2-furancarboxylat, Ethylgallat,  
 Ethyllävulinat, Ethylmandelat, Ethyl-2-methylactat, Ethyl-4-nitrocinnamat, Ethyloxamat,  
 Ethyl-2-oxocyclohexancarboxylat, Ethyl-4-oxocyclohexancarboxylat, Ethyl-5-oxohexanoat,  
 Ethyl-2-phenylacetoacetat, Ethyl-2-phenylacetoacetat, Ethyl-(phenylglyoxylat), Ethyl-4-piperi-  
 dincarboxylat, Ethyl-2-pyridincarboxylat, Ethyl-3-pyridincarboxylat, Ethyl-4-pyridincarboxylat,  
 yruvat, Ethylthioglycolat, Ethyl-3,4,5-trihydroxybenzoat, (2-Hydroxyethyl)-methacrylat,  
 (2-Hydroxypropyl)-methacrylat, 3-Indolacetat, (2-Methoxyethyl)-acetat, (1-Methoxy-2-propyl)-  
 acetat, Methylacetoacetat, Methyl-2-aminoabbenzoat, Methyl-3-aminocroconat, Methyl-  
 cyanacetat, Methyl-(4-cyanbenzoat), Methyl-(4-formylbenzoat), Methyl-2-furancarboxylat,  
 Methyl-isobutyrylacetat, Methyl-methoxyacetat, Methyl-2-methoxybenzoat, Methyl-3-oxo-  
 pentanoat, Methyl-phenylglyoxylat, Methyl-phenylsulfinylacetat, Methylpivaloylacetat,  
 Methyl-3-pyridincarboxylat, 5-Nitrofurfurylidendiacetat, Propylgallat, Propyl-3,4,5-  
 trihydroxybenzoat, Methyl-(3-methylthiopropionat), Acetamid, Acetanilid, Benzamid,  
 Benzanilid, N,N-Diethylacetamid, N,N-Dimethylformamid, N,N-Diethyl-3-methylbenzamid,  
 Diethyltoluamid, N,N-Dimethylacetamid, N,N-Dimethylformamid, N,N-Diphenylacetamid,  
 N-Methylformamid, N-Methylformanilid, N-Acetylthioharnstoff, Adipinsäurediamid,  
 10benzamid, 4-Aminobenzamid, Bernsteinsäurediamid, Malonsäurediamid, N,N'-  
 Methylendiacylamid, Oxalsäurediamid, Pyrazin-2-carbonsäureamid, Pyridin-4-carbonsäureamid,  
 N,N,N',N'-Tetramethylbernsteinsäurediamid, N,N,N',N',- Tetramethylglutarsäurediamid,  
 Acetoacetanilid, Benzohydroxamsäure, Cyanacetamid, 2-Ethoxybenzamid, Diethyl-acetamido-  
 malonat, Ethyl-(acetamidocyanacetat), Ethyloxamat, Hippursäure-Na-Salz, N-(Hydroxymethyl)-  
 acrylamid, L-(-) Michsäureamid, 2'-Nitroacetanilid, 3'-Nitroacetanilid, 4'-Nitroacetanilid,  
 Paracetamol, Piperin, Salicylanilid, 2-Acetyl- $\gamma$ -butyrolacton,  $\gamma$ -Butyrolacton,  $\epsilon$ -Caprolacton,  
 Dihydrocumarin, 4-Hydroxycumarin, 2(5H)-Furanon, 2,5-Dihydro-5-methoxy-2-furanon,  
 Phthalid, Tetrahydrofuran-2,4-dion, 2,2,6-Trimethyl-1,3-dioxin-4-on,  $\gamma$ -Valerolacton,  
 4-Amino-1,3-dimethyluracil, Barbitursäure, O-Benzylloxycarbonyl-N-hydroxy-succinimid,

Bernsteinsäureimid, 3,6-Dimethylpiperazin-2,5-dion, 5,5-Diphenylhydantoin, Ethyl-1,3-dioxoisindolin-2-carboxylat, 9-Fluorenylmethyl-succinimidyl-carbonat, Hydantoin, Maleinimid, 3-Methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-on, 1-Methyl-2-pyrrolidon, Methyluracil, 6-Methyluracil, Oxindol, Phenytoin, 1 (2H)-Phthalazinon, Phthalimid, 2,5-Piperazindion, 2-Piperidinon, 2-Pyrrolidon, Rhodanin, Saccharin, 1,2,3,6-Tetrahydrophthalimid, 1,2,3,4-Tetrahydro-6,7-dimethoxy-chinazolin-2,4-dion, 1,5,5-Trimethylhydantoin, 1-Vinyl-2-pyrrolidon, Di-tert-butylldicarbonat, Diethylcarbonat, Dimethylcarbonat, Dimethyldicarbonat, Diphenylcarbonat, 4,5-Diphenyl-1,3-dioxol-2-on, 4,6-Diphenylthieno(3,4-d)-1,3-dioxol-2-on-5,5-dioxid, Ethylencarbonat, Magnesium-methoxid-methyl-carbonat, Monomethylcarbonat-Na-Salz, Propylencarbonat, N-Allylharnstoff, Azodicarbonsäurediamid, N-Benzylharnstoff, Biuret, 1,1'-Carbonyldiimidazol, N,N-Dimethylharnstoff, N-Ethylharnstoff, N-Formylharnstoff, Harnstoff, n-Methylharnstoff, N-Phenylharnstoff, 4-Phenylsemicarbazid, Tetramethylharnstoff, arbazidhydrochlorid, Diethyl-azodicarboxylat, Methylcarbamat, 1-(4-Methoxyphenyl)-2-(2-methoxy-phenoxy)-ethanon, 1-(4-Methoxyphenyl)-2-(2-methoxy-phenoxy)-ethanol.

Weiterhin bevorzugt sind Anhydride wie:

Benzoessäureanhydrid, Benzol-1,2,4,5-tetracarbonsäure-1,2,4,5-dianhydrid, 3,3',4,4'-Benzophenontetracarbonsäureanhydrid, Bernsteinsäureanhydrid, Buttersäureanhydrid, Crotonsäureanhydrid, cis-1,2-Cyclohexandicarbonsäureanhydrid, Di-tert-butylldicarbonat, Dimethyldicarbonat, Dodecenylnbernsteinsäureanhydrid, Epicon B4400, Essigsäureanhydrid, Glutarsäureanhydrid, Hexansäureanhydrid, Isatosäureanhydrid, Isobuttersäureanhydrid, Isovaleriansäureanhydrid, Maleinsäureanhydrid, Naphthalin-1,8-dicarbonsäureanhydrid, 3-Nitrophthalsäureanhydrid, 5-Norboren-2,3-dicarbonsäureanhydrid, Phthalsäureanhydrid, 2-Phenylbuttersäureanhydrid, Pivalinsäureanhydrid, Propionsäureanhydrid, cis-1,2,3,6-tydrophthalsäureanhydrid, Valeriansäureanhydrid.

19. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß es als besonders bevorzugte Ketone Benzophenone enthält, wie:

Benzophenon, 4-Aminobenzophenon, 2-Amino-5-chlorbenzophenon, Benzophenon-2-carbonsäure, (S)-(-)-2-(N-Benzopropyl)-aminobenzophenon, 4,4'-Bis-(dimethylamino)-benzophenon, 4,4'-Bis-(diethylamino)-benzophenon, 3,4-Dimethoxybenzophenon, 4,4'-Dihydroxybenzophenon, 2,4-Dihydroxybenzophenon, 4-Hydroxybenzophenon, 2-Hydroxy-4-Methoxybenzophenon, 4-Methoxybenzophenon, 4,4'-Dimethoxybenzophenon, 2,2',4,4' Tetrahydroxybenzophenon, 2-Chlorbenzophenon.

20. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 1 bis 19 , dadurch gekennzeichnet, daß als zusätzliche Systeme Mehr- bzw. Multikomponentensysteme zugesetzt werden können, enthaltend a) einen Oxidationskatalysator, b) mindestens ein geeignetes ggf. zusätzliches Oxidationsmittel, c) ggf. einen Mediator, ausgewählt aus der Gruppe der Hydroxylamine, Hydroxylaminderivate, Hydroxamsäuren, Hydroxamsäurederivate, der aliphatischen, cycloaliphatischen, heterocyclischen oder aromatischen Verbindungen, die mindestens eine N-Hydroxy-, Oxim-, N-Oxi-, oder N,N'-Dioxi-Funktion enthalten, d) ggf. mindestens einen Mediator aus der Gruppe der Amide wie z.B. Hydrazide oder 1,2,3-Triazolidin-3,5-dione (Urazole), e) ggf. mindestens einen Mediator aus der Gruppe der Imide wie z.B. Hydantoine, f) ggf. mindestens einen Mediator aus der Gruppe der Oxokohlenstoffe, g) ggf. mindestens einen Comediator, ausgewählt aus der Gruppe der arylsubstituierten Alkohole, Carbonylverbindungen, aliphatischen Ether, Phenolether und/oder Olefine(Alkene), h) ggf. mindestens einen Comediator, ausgewählt aus der Gruppe der genannten Mediatoren des NO-, NOH-, HRN-OH-Typs, ausgewählt aus der Gruppe der Hydrazide, Urazole, Hydantoine, Oxokohlenstoffe oder ausgewählt aus der Gruppe kationradikalbildender Substanzen des Phenothiazintyps, des Phenoxazintyps oder des (R=N-N=R)-Typs ( z.B. ABTS) oder von arylsubstituierten Alkoholen (Nichtphenole) wie z.B.: Veratrylalkohol, oder von Phenolabkömmlingen wie p-Hydroxycinnamic acid, 2,4-Dichlorphenol, p-Hydroxybenzol-Sulfonat, Vanillin (4-Hydroxy-3-Methoxybenzaldehyd), p-Hydroxybenzoesäure, 5-Amino-2-Hydroxy- benzoesäure (5-Aminosalycilsäure) oder von Radikalkationverbindungen nach „Wurster“ oder Radikalanionen, i) ggfs. eine geringe Menge mindestens eines freien Amins eines jeweils eingesetzten NO-/NOH-/NRH-OH- Mediators.

Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 20 , dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationskatalysatoren Enzyme wie Oxidoreduktasen der Klassen 1.1.1. bis 1.97 eingesetzt werden, bevorzugt:

Cellobiose: oxigen-1-oxidoreductase (Cellobiose oxidase) (1.1.3.25), Cellobiose: quinone -1-oxidoreductase (1.1.5.1), Bilirubinoxidase (1.3.3.5), Cytochromoxidase (1.9.3),

Oxygenasen, Lipoxigenasen (1.13, 1.14), Superoxid-dismutase (1.15.11),

Ferrioxidase, z.B. Ceruloplasmin (1.16.3.1),

1.10, wie Catechol Oxidase (Tyrosinase) (1.10.3.1), L-Ascorbate Oxidase

(1.10.3.3), O-Aminophenol Oxidase (1.10.3.4) und Laccase (Benzoldiol:Oxygen

Oxidoreduktase) (1.10.3.2) ,

1.11. , wie

Cytochrom-C Peroxidase (1.11.1.5), Catalase (1.11.1.6), Peroxidase (1.11.1.7) Iodid-Peroxidase (1.11.1.8), Glutathione-Peroxidase (1.11.1.9), Chlorid Peroxidase (1.11.1.10), L-Ascorbat-Peroxidase (1.11.1.11), Phospholipid-Hydroperoxid-Glutathione-Peroxidase (1.11.1.12), Mangan Peroxidase (1.11.1.13), Diarylpropan-Peroxidase (Ligninase, Lignin Peroxidase) (1.11.1.14).

22. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 20 und 21 , dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationskatalysatoren bevorzugt Enzyme wie Laccasen und/oder Peroxidasen eingesetzt werden.

23. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 22 , dadurch gekennzeichnet, daß es zugt Laccasen und/oder Peroxidasen aus Weißfäulepilzen wie z.B. *Trametes versicolor*, *Trametes spec.*, *Phlebia spec.*, *Pleurotus spec.*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Agaricus spec.*, u.a., andere Pilze, Bakterien, Pflanzen und tierische Zellen, die aus natürlichen oder gentechnisch veränderten Organismen gewonnen werden, enthält.

24. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 20 bis 23, dadurch gekennzeichnet, daß als Enzym-Katalysatoren modifizierte Enzyme, Enzymbestandteile, prosthetische Gruppen oder Mimicsubstanzen eingesetzt werden können.

25. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 20 bis 24, dadurch gekennzeichnet, daß als zusätzliche Oxidationsmittel, bevorzugt Luft, Sauerstoff Ozon, Peroxidverbindungen wie  $H_2O_2$ , organische Peroxide, Persäuren wie die Peressigsäure, Perameisensäure, Perschwefelsäure, Persalpetersäure, Metachlorperoxidbenzoesäure, Perchlorsäure, Perverbindungen wie Perborate, Percarbonate, Persulfate oder Sauerstoffspezies und deren Radikale wie OH-Radikal, OOH-Radikal,  $OH^+$ -Radikal, Superoxid ( $O_2^-$ ), Dioxygenyl- Kation ( $O_2^+$ ), Singulett-Sauerstoff, Ozonid ( $O_3^-$ ), Dioxirane, Dioxitane oder Fremy Radikal eingesetzt werden.



26. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 20 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß als Mediator- (Comediator-)substanzen solche nach den Formeln I bis XXII und entsprechende Verbindungen (Anhang I und als Comediator- (Mediator-)verbindungen solche nach Aufstellung (Anhang II) eingesetzt werden.

27. Enzym-Komponenten-System nach Anspruch 20 bis 26, dadurch gekennzeichnet, daß das Mediator/ Comediator-Verhältnis 5000:1 bis 5:1 besonders bevorzugt 500:1 bis 5:1 beträgt, während das Verhältnis beim gleichzeitigen Einsatz von mehreren Mediatoren und Comediatorsen innerhalb dieser Mediator- bzw. Comediatorskonzentrationen von den jeweiligen Kombinationen abhängt.

28. Verfahren nach Anspruch 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System zur **Delignifizierung und /oder Veränderung und/oder Bleiche von Zellstoffen aus Holz und Einjahrespflanzen und Holzstoffen und Deinkstoffen** eingesetzt wird.

29. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-Systems in einem pH-Bereich von pH 2 bis 11, vorzugsweise bei pH 3 bis 9, bei einer Temperatur von 20 bis 95°C, vorzugsweise 40 bis 95°C und einer Stoffdichte von 0,5 bis 40 %, bevorzugt 4 bis 15% und unter Luft oder Sauerstoff bei Normaldruck oder leichtem Überdruck (bis 2 bar) durchgeführt wird.

30. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß als Enzym im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System bevorzugt Lipase aus *Humicola laniginosa* in einer Konzentration von 0.05 bis 5 mg pro g Zellstoff, bevorzugt 0.05 mg bis 2 mg Enzym pro g Zellstoff (entsprechend ca. 250 bis 10000 IU pro g Zellstoff) oder Amidase aus *Pseudomonas aeruginosa* bevorzugt in einer Konzentration von 40 bis 200 IU pro g Zellstoff eingesetzt werden.

31. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationsmittel im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System vorzugsweise  $H_2O_2$  in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Zellstoff (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 10 mg pro g Zellstoff zugesetzt wird.

32. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 3) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System **Fettsäuren** in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub>, besonders bevorzugt C<sub>8</sub> bis C<sub>16</sub>, ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Zellstoff, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 10 mg pro g Zellstoff eingesetzt werden.

33. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 4) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System **Ketone**, bevorzugt z.B. Benzophenone in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Zellstoff, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 10 mg pro g Zellstoff eingesetzt werden.

Verfahren gemäß Anspruch 28 bis 33, dadurch gekennzeichnet, daß vor der Reaktion des Enzym-Komponenten-Systems eine saure Wäsche oder Q-Stufe eingesetzt wird.

35. Verfahren nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß die saure Wäsche bei 60-120 °C, bei pH 2 bis 5,5 für 30-90 min und 4-20% Stoffdichte durchgeführt wird.

36. Verfahren nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß die Q-Stufe (mit 0,05 - 1%, vorzugsweise 0,2 - 0,5 % Chelatbildner) bei 60-100°C, bei pH 2 bis 5,5 für 30-90 min und 4-20% Stoffdichte durchgeführt wird.

37. Verfahren nach Anspruch 34 bis 36, dadurch gekennzeichnet, daß für die saure Wäsche und Q-Stufe 1 Std., 60 - 90°C, pH 2 bis 5 und 10% Stoffdichte eingehalten werden.

38. Verfahren nach Anspruch 28 bis 37, dadurch gekennzeichnet, daß das Enzym-Komponenten-System vor oder nach jeder möglichen Behandlung des Zellstoffes, sei es ein Kochverfahren, Bleichstufen oder andere Vor- und/oder Nachbehandlungen in Ein- oder Mehrzahl eingesetzt werden kann, wie alkalisches leaching, alkalische Extraktion, Wäsche, Saure Behandlung, Q-Stufe, O<sub>2</sub>-Delignifizierungsstufe, Peroxidbleichstufe, O<sub>2</sub>- unterstützte Peroxidstufe, Druckperoxidstufe, Persäurestufe, persäureunterstützte O<sub>2</sub>- bzw. Peroxidstufe, Ozonbleichstufe, Dioxiranstufe, Cl-Delignifizierungsstufe, ClO<sub>2</sub> -Bleichstufe,

Cl/ClO<sub>2</sub> - Bleichstufe, reduktive Bleichstufen, Sulfonierungsstufen, NO/NO<sub>2</sub>- Behandlungen, Nitrosylschwefelsäure-Behandlung, Quellstufen, Enzymbehandlungen wie z.B. Behandlungen mit Hydrolasen wie Cellulasen und/oder Hemicellulasen (z.B. Xylanase, Mannanase etc.) und/oder Pektinasen und/oder Proteinasen und/oder Lipasen und/oder Amidasen und/oder Oxidoreduktasen wie z.B. Laccasen und/oder Peroxidasen etc. bzw. mehrere kombinierte Behandlungen.

39. Verfahren nach Anspruch 38 dadurch gekennzeichnet, daß die Quellstufe mit Hilfe von Stoffen wie z.B.: **Glycole** wie: Propylenglycol, Ethylenglycol, **Glycolether** wie: Ethylenglycoldimethylether etc. aber auch Lösungsmittel wie z.B. **Alkohole** wie: Methanol, Ethanol, Butanol, Amyl-alkohol, Cyclohexanol, Benzylalkohol, Chlorhydrin, **Phenole** wie: Phenol, Methyl- und Methoxyphenole, **Aldehyde** wie: Formaldehyd, Chloral, **captane** wie: Buthylmercaptan, Benzylmercaptan, Thioglycolsäure, **Organische Säuren** wie: Ameisensäure, Essigsäure, Chloressigsäure, **Amine** wie Ammoniak, Hydrazin, **Hydrotope Lösungsmittel** wie: z.B. konz. Lösungen von Natriumbenzoat, **Sonstige** wie: Benzole, Pyridine, Dioxan, Acetessigsäureethylester, andere basische Lösungsmittel wie OH/H<sub>2</sub>O, bzw. OH/Alkohole u.a. durchgeführt wird.

40. Verfahren nach Anspruch 28 bis 39, dadurch gekennzeichnet, daß der Reaktionslösung Hemicellulasen, Cellulasen, Amylasen, Pektinasen oder Lipasen oder ein aus zwei oder mehreren dieser Enzyme bestehendes Gemisch zugesetzt werden.

41. Verfahren nach Anspruch 28 bis 40, dadurch gekennzeichnet, daß der Reaktionslösung Reduktionsmittel zugesetzt werden.

42. Verfahren nach Anspruch 41, dadurch gekennzeichnet, daß als Reduktionsmittel Natrium-Bisulfit, Natrium-Dithionit, Ascorbinsäure, Thiolverbindungen, Mercaptoverbindungen oder Glutathion eingesetzt werden.

43. Verfahren nach Anspruch 28 bis 42, dadurch gekennzeichnet, daß der Reduktionslösung kationenbildende Metallsalze zugesetzt werden.

44. Verfahren nach Anspruch 43, dadurch gekennzeichnet, daß als Kationen Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Mn<sup>2+</sup>,

$\text{Mn}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{4+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{1+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ti}^{3+}$ ,  $\text{Ce}^{4+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  eingesetzt werden.

45. Verfahren nach Anspruch 28 bis 44 dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich Komplexbildner der Reaktionslösung zugegeben werden.

46. Verfahren nach Anspruch 45, dadurch gekennzeichnet, daß als Komplexbildner Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA), Hydroxyethylendiamintriessigsäure (HEDTA), Diethylentriaminpentamethylenphosphonsäure (DTMPA), Nitrilotriessigsäure (NTA), Polyphosphorsäure (PPA) oder andere Eisen-, Mangan-, oder Kupfer-Komplexoren, z.B. Diethylamin, Hydroxylamin eingesetzt werden.

47. Verfahren nach Anspruch 28 und 46, dadurch gekennzeichnet, daß NaOCl eingesetzt wird.

48. Verfahren nach Anspruch 28 bis 47, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich Detergentien eingesetzt werden.

49. Verfahren nach Anspruch 48, dadurch gekennzeichnet, daß als Detergentien nichtionische, ionische, anionische, kationische und amphotere Tenside zugesetzt werden.

50. Verfahren nach Anspruch 28 bis 49, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich Polysaccharide und/oder Proteine der Reaktionslösung zugesetzt werden.

51. Verfahren nach Anspruch 50, dadurch gekennzeichnet, daß als Polysaccharide Glucane, Mannane, Dextrane, Lävane, Alginate oder Pflanzengummi eingesetzt werden.

52. Verfahren nach Anspruch 50 und 51, dadurch gekennzeichnet, daß als Proteine Gelatine und/ oder Albumin eingesetzt werden.

53. Verfahren nach Anspruch 28 bis 52, dadurch gekennzeichnet, daß Proteasen, wie Pepsin, Papain, Bromelim u.a. (eventuell auf hydroxyprolinreiche Proteine wirkende) Proteasen eingesetzt werden.

54. Verfahren nach Anspruch 28 bis 53 dadurch gekennzeichnet, daß als Zusätze Einfachzucker,

Oligomerzucker, Aminosäuren, Polyethylenglycole, Polyethylenoxide, Polyethylenimine und Polydimethylsiloxane eingesetzt werden.

55. Verfahren nach Anspruch 28 bis 54, dadurch gekennzeichnet, daß dem System Radikalbildner oder Radikalfänger zugesetzt werden.

56. Verfahren nach Anspruch 28 bis 55, dadurch gekennzeichnet, daß es zur Delignifizierung und/oder Bleiche von Zellstoffen zeitlich nach oder vor allen bekannten Kochverfahren eingesetzt wird.

57. Verfahren nach Anspruch 56, dadurch gekennzeichnet, daß als Kochverfahren Sulfat-, Sulfit-, Organosolv-, ASAM-Verfahren, Enabatch-Verfahren, Superbatch u.a. durchgeführt werden.

58. Verfahren nach Anspruch 28 bis 57, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren in mehreren Stufen durchgeführt wird, wobei zwischen jeder Stufe eine Wäsche oder eine Wäsche und eine Extraktion mit Lauge oder weder Wäsche noch Extraktion stattfindet.

59. Verfahren zum Behandeln von Lignin, ligninhaltigen Materialien oder ähnlichen Stoffen, dadurch gekennzeichnet, daß man die jeweils ausgewählten Komponenten 1-4 des Enzym-Komponenten-Systems gemäß Anspruch 1 gleichzeitig oder in beliebiger Reihenfolge mit einer wässrigen Suspension des ligninhaltigen Materials mischt, bevorzugt die Reaktion durch Zugabe des Enzyms oder des Precursor-Oxidationsmittels startet.

Verwendung von in Anspruch 1 genannten Komponenten des Enzym-Komponenten-Systems zum Verändern, Abbau oder Bleichen von Lignin und/oder ligninhaltigen Materialien.

61. Verfahren nach Anspruch 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System zur Behandlung von **Papierfabrikationsabwässer** (Schleiferei-Abwasser, TMP-Abwasser) und von Abwässern anderer Industriezweige, wie **Zellstoffabwässer** und **Textilfabrikationsabwässer** u.a. eingesetzt wird.

62. Verfahren nach Anspruch 61, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System in einem pH-Bereich von pH 2 bis 11, vorzugsweise

pH 3 bis 6, bei einer Temperatur von 20 bis 95 °C, vorzugsweise 40 bis 95 °C, in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis leichtem O<sub>2</sub>-Überdruck (bis 2 bar) durchgeführt wird.

63. Verfahren nach Anspruch 61, dadurch gekennzeichnet, daß als Enzym im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System bevorzugt Lipase aus *Aspergillus spec.* in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt 0.05 bis 10 mg pro Liter Abwasser (ca. 250 bis 50000 IU pro Liter Abwasser) eingesetzt wird.

63. Verfahren nach Anspruch 61, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationsmittel im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System vorzugsweise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser zugesetzt wird.

64. Verfahren nach Anspruch 61, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 3) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Fettsäuren in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub>, besonders bevorzugt C<sub>8</sub> bis C<sub>16</sub>, ganz besonders bevorzugt Tetradekansäure oder Dodekansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt werden.

65. Verfahren nach Anspruch 61, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 4) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Ketone, bevorzugt z.B. Benzophenone, in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt werden.

66. Verfahren nach Anspruch 61, dadurch gekennzeichnet, daß als Polymerisationskatalysatoren im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System v.a. phenolische Substanzen, bzw. Polycyclen mit mehreren oxidierbaren Hydroxylgruppen eingesetzt werden.

67. Verfahren nach Anspruch 66, dadurch gekennzeichnet, daß als Polymerisationskatalysatoren im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System mit Vorzug folgende Verbindungen eingesetzt werden:

Alizarin, 5-Amino-2-hydroxy-benzoesäure, 3-Aminophenol, Brenzkatechin, 2,2-Bis-(4-hydroxyphenyl)-propan, Bis-(4-hydroxyphenyl)-methan, Chinalizarin, 4-Chlor-1-naphthol,

Coniferylalkohol, 2,4- Diaminophenoldihydrochlorid, 3,5-Dichlor-4-hydroxyanilin, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 2,2-Dihydroxybiphenyl, 4,4-Dihydroxybiphenyl, 2,3-Dihydroxynaphthalin, 2,6-Diisopropylphenol, 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzhydrazin, 2,5-Di-tert.-butyl-hydrochinon, 2,6-Di-tert.-butyl-4-methylphenol, 4-Hydroxybiphenyl, 2-Hydroxydiphenyl-methan, 2-(2-Hydroxyphenyl)-benzothiazol, 5- Indanol, 2-Isopropoxyphenol, 4-Isopropyl-3-methylphenol, 5-Isopropyl-2-methylphenol, 4-Isopropylphenol, Laurylgallat, 2-Naphthol, 4-Nonylphenol, 3-(Pentadecyl)-phenol, 2-Propylphenol, 4-Propylphenol, Purpurin, Pyrogallol, 4-(1,1,3,3-Tetra-methylbutyl)-phenyl, 1,2,4-Trihydroxybenzol, 2,4,6-Trimethylphenol, 2,3,5-Trimethylphenol, 2,3,6-Trimethylphenol, 3,4,5-Trimethylphenol, 6,7-Dihydroxy-4-methylcumarin, 2-(2-Hydroxyethoxy)- benzaldehyd, 1-Naphthol, Nordihydroguaiarsäure, Octylgallat, Silibinin, 3,4,6- Trihydroxybenzoesäure-ester, 2,4,6-Tri-tert.-butylphenol, 2,4-Di-tert.-butylphenol, 2,6-Dichlorphenolindophenol, xyquin, 1-Aminoanthraquinon, 2-Amino-5-chlorobenzophenon, 4-Aminodiphenyl-amin, 7-Amino-4-hydroxy-2-naphthalensulfonsäure, 2-(4-Aminophenyl)-6-methylbenzothiazol, Benzanthron, Trioctyltrimellitat, trans-Chalcon, Bis-(4-amino-phenyl)-amin-sulfat, 2,2'-Ethylidenbis-(4,6-di-tert.-butylphenol), 2,2-Bis-(2,6-dibrom-4-(2-hydroxyethoxyphenyl)-propan, Bis-(3,5-di-tert.-butyl-4-hydroxyphenyl)-methan, 2,2-Bis-(3,5-dichlor-4-hydroxyphenyl)-propan, Bismarck Brown Y, 1-Bromonaphthalen, 4-Butylanilin, 2-tert.-butyl-5-methylphenol, 1-Chloroanthrachinon, 2-Chloroanthrachinon, Triallyl-1,3,5-benzoltricarboxylat, 1,1-Tris-(hydroxymethyl)-propan-trimethacrylat, Pentaerythrityl-triacrylat, 1,2,4-Trivinylcyclohexan, trans,cis-Cycloododeca-1,5,9-trien, Pentaerythritol-tetrabenzoat, 4,4'-Methylenbis-(2,6-di-tert.-butylphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dichlorophenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dibromphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2-(2,6-m-phenoxy)ethanol, 2,2'Ethylidenbis-4,6-di-tert.-butylphenol), 3-tert-Butyl-4-hydroxy-5-methyl-phenyl, 5-tert-Butyl-4-hydroxy-2-methyl-phenyl, Syringaldazin, 4,4'-Dimethoxy-triphenylmethan, Di-sec. Butylphenol.

Weiterhin besonders bevorzugt sind Stoffe, die mehrere Hydroxylgruppen besitzen wie:

Ellagsäure, Gallussäure, Gallein, Gallangin, Myo-Inositol, Morin, Nitranilsäure, Phenolphthalein, Purpurin, Purpurogallin, Quinizarin, Chrysazin, Quercitin, Quinhydrin, Chloranilsäure, Carmin, Rhodizonsäure, Croconsäure, Melliticsäure, Hematoxin, 9-Phenyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, 9-Methyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, Tetrahydroxy-p-benzochinon, 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenon, Pyrogallol Red, 1-Nitrophloroglucinol, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinon, Hexaoxocyclohexanoctahydrat, 5,7-Dihydroxyflavanon,

3',4'-Dihydroxy-flavanon, Glyoxalhydrat, 1,3,5-Tris(2-Hydroxyethyl)-isocyanursäure, Chinalizarin, 2,4,5-Trihydroxybenzamin.

68. Verfahren nach Anspruch 66, dadurch gekennzeichnet, daß als Polymerisationskatalysator im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System bevorzugt Purogallin in einer Konzentration von 0.005 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration von 0.005 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt wird.

69. Verfahren nach Anspruch 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System zur **Herstellung von Ligninlösungen oder Gelen, von entsprechenden Bindern/Klebern und zur Herstellung von Holzverbundstoffen** eingesetzt wird.

70. Verfahren nach Anspruch 69, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System in einem pH-Bereich von pH 2 bis 11, vorzugsweise pH 3 bis 6, bei einer Temperatur von 20 bis 95 °C, vorzugsweise 40 bis 95 °C, in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis leichtem O<sub>2</sub>-Überdruck (bis 2 bar) durchgeführt wird.

71. Verfahren nach Anspruch 69, dadurch gekennzeichnet, daß als Enzym im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System bevorzugt Lipase aus *Humicola lanuginosa* in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser (als Modellsystem für diese Anwendung), bevorzugt 0.05 bis 10 mg pro Liter Abwasser (ca. 250 bis 50000 IU pro Liter Abwasser) eingesetzt wird.

72. Verfahren nach Anspruch 69, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationsmittel im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System vorzugsweise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser zugesetzt wird.

73. Verfahren nach Anspruch 69, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 3) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Fettsäuren in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub>, besonders bevorzugt C<sub>8</sub> bis C<sub>16</sub>, ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in



einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt werden.

74. Verfahren nach Anspruch 69, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 4) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Ketone, bevorzugt z.B. Benzophenone, in einer Konzentration von 0.05 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt werden.

75. Verfahren nach Anspruch 69, dadurch gekennzeichnet, daß als Polymerisationskatalysatoren im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System v.a. phenolische Substanzen, bzw. Polycyclen mit mehreren oxidierbaren Hydroxylgruppen eingesetzt werden.

76. Verfahren nach Anspruch 75, dadurch gekennzeichnet, daß als Polymerisationskatalysatoren im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System mit Vorzug folgende Verbindungen eingesetzt werden:

Alizarin, 5-Amino-2-hydroxy-benzoesäure, 3-Aminophenol, Brenzkatechin, 2,2-Bis-(4-hydroxyphenyl)-propan, Bis-(4-hydroxyphenyl)-methan, Chinalizarin, 4-Chlor-1-naphthol, Coniferylalkohol, 2,4-Diaminophenoldihydrochlorid, 3,5-Dichlor-4-hydroxyanilin, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 2,2-Dihydroxybiphenyl, 4,4-Dihydroxybiphenyl, 2,3-Dihydroxynaphthalin, 2,6-Diisopropylphenol, 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzhydrazin, 2,5-Di-tert.-butyl-hydrochinon, 2,6-Di-tert.-butyl-4-methylphenol, 4-Hydroxybiphenyl, 2-Hydroxydiphenyl-methan, 2-(2-Hydroxyphenyl)-benzothiazol, 5-Indanol, 2-Isopropoxyphenol, 4-Isopropyl-3-methylphenol, 5-Isopropyl-2-methylphenol, 4-Isopropylphenol, Laurylgallat, 2-Naphthol, 4-Nonylphenol, 3-(Pentadecyl)-phenol, 2-Propylphenol, 4-Propylphenol, Purpurin, Pyrogallol, 4-(1,1,3,3-Tetra-methylbutyl)-phenyl, 1,2,4-Trihydroxybenzol, 2,4,6-Trimethylphenol, 2,3,5-Trimethylphenol, 2,3,6-Trimethylphenol, 3,4,5-Trimethylphenol, 6,7-Dihydroxy-4-methylcumarin, 2-(2-Hydroxyethoxy)-benzaldehyd, 1-Naphthol, Nordihydroguaiarsäure, Octylgallat, Silibinin, 3,4,6-Trihydroxybenzoesäure-octylester, 2,4,6-Tri-tert.-butylphenol, 2,4-Di-tert.-butylphenol, 2,6-Dichlorphenolindophenol, Ethoxyquin, 1-Aminoanthraquinon, 2-Amino-5-chlorobenzophenon, 4-Aminodiphenyl-amin, 7-Amino-4-hydroxy-2-naphthalensulfonsäure, 2-(4-Aminophenyl)-6-methylbenzothiazol, Benzanthron, Trioctyltrimellitat, trans-Chalcon, Bis-(4-amino-phenyl)-amin-sulfat, 2,2'-Ethylidenbis-(4,6-di-tert.-butylphenol), 2,2-Bis-(2,6-dibrom-4-(2-hydroxyethoxyphenyl)-propan, Bis-(3,5-di-tert.-butyl-4-hydroxyphenyl)-methan, 2,2-Bis-(3,5-

dichlor-4-hydroxyphenyl)-propan, Bismarck Brown Y, 1-Bromonaphthalen, 4-Butylanilin, 2-tert.-butyl-5-methylphenol, 1-Chloroanthrachinon, 2-Chloroanthrachinon, Triallyl-1,3,5-benzoltricarboxylat, 1,1-Tris-(hydroxymethyl)-propan-trimethacrylat, Pentaerythrityl-triacrylat, 1,2,4-Trivinylcyclohexan, trans,cis-Cyclododeca-1,5,9-trien, Pentaerythritol-tetrabenzoat, 4,4'-Methylenbis-(2,6-di-tert.-butylphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dichlorophenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dibromphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2-(2,6-dibrom-phenoxy)ethanol, 2,2'Etylidenbis-4,6-di-tert.-butyl-phenol), 3-tert-Butyl-4-hydroxy-5-methyl-phenyl, 5-tert-Butyl-4-hydroxy-2-methyl-phenyl, Syringaldazin, 4,4'-Dimethoxy-triphenylmethan, Di-sec. Butylphenol.

Weiterhin besonders bevorzugt sind Stoffe, die mehrere Hydroxylgruppen besitzen wie: Ellagsäure, Gallussäure, Gallein, Gallangin, Myo-Inositol, Morin, Nitranilsäure, Phenolphthalein, Purpurin, Purpurogallin, Quinizarin, Chrysazin, Quercitin, Quinhydrin, Chloranilsäure, Chin, Rhodizonsäure, Croconsäure, Melliticsäure, Hematoxilin, 9-Phenyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, 9-Methyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, Tetrahydroxy-p-benzochinon, 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenon, Pyrogallol Red, 1-Nitrophloroglucinol, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinon, Hexaoxocyclohexanooctahydrat, 5,7-Dihydroxyflavanon, 3',4'-Dihydroxy-flavanon, Glyoxalhydrat, 1,3,5-Tris(2-Hydroxyethyl)-isocyanursäure, Chinalizarin, 2,4,5-Trihydroxybenzamin.

76. Verfahren nach Anspruch 69, dadurch gekennzeichnet, daß als Polymerisationskatalysator im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System bevorzugt Purogallin in einer Konzentration von 0.005 bis 200 mg pro Liter Abwasser, bevorzugt in einer Konzentration von 0.005 bis 50 mg pro Liter Abwasser eingesetzt wird.

77. Verfahren nach Anspruch 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System zur enzymatischen Druckfarbentfernung beim Deinken von Altpapier eingesetzt wird.

78. Verfahren nach Anspruch 77, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System in einem pH-Bereich von pH 7 bis 11, vorzugsweise

pH 7 bis 9, bei einer Temperatur von 20 bis 95 °C, vorzugsweise 40 bis 95 °C, in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck oder bei leichtem Überdruck (maximal 2 bar) durchgeführt wird.

79. Verfahren nach Anspruch 77, dadurch gekennzeichnet, daß als Enzym im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System bevorzugt Lipase aus *Humicola lanuginosa* in einer Konzentration von 5 bis 500 mg pro kg lutro Altpapier, bevorzugt 5 bis 100 mg pro kg Altpapier (ca. 25000 bis 500000 IU pro kg Altpapier) eingesetzt wird.

80. Verfahren nach Anspruch 77, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationsmittel im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System, vorzugsweise  $H_2O_2$  in einer Konzentration von 5 bis 5000 mg pro kg lutro Altpapier (100%ige Ware), vorzugsweise 5 bis 1000 mg pro Altpapier zugesetzt wird.

81. Verfahren nach Anspruch 77, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 3) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Fettsäuren in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt  $C_6$  bis  $C_{26}$ , besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$ , ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 5 bis 2000 mg pro kg lutro Altpapier, bevorzugt in einer Konzentration von 5 bis 500 mg pro kg Altpapier eingesetzt werden.

82. Verfahren nach Anspruch 77, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 4) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Ketone, bevorzugt z.B. Benzophenone, in einer Konzentration von 5 bis 2000 mg pro kg lutro Altpapier, bevorzugt in einer Konzentration von 5 bis 500 mg pro kg Altpapier eingesetzt werden.

83. Verfahren nach Anspruch 77, dadurch gekennzeichnet, daß im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System v.a. phenolische Substanzen, bzw. Polycyclen mit mehreren oxidierbaren Hydroxylgruppen zur Veränderung des pH-Optimums der Druckfarbablösereaktion und Beeinflussung des Altpapierfaser-Quellverhaltens eingesetzt werden, wie:

Alizarin, 5-Amino-2-hydroxy-benzoesäure, 3-Aminophenol, Brenzkatechin, 2,2-Bis-(4-hydroxyphenyl)-propan, Bis-(4-hydroxyphenyl)-methan, Chinalizarin, 4-Chlor-1-naphthol,

Coniferylalkohol, 2,4- Diaminophenoldihydrochlorid, 3,5-Dichlor-4-hydroxyanilin, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 2,2-Dihydroxybiphenyl, 4,4-Dihydroxybiphenyl, 2,3-Dihydroxynaphthalin, 2,6-Diisopropylphenol, 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzhydrazin, 2,5-Di-tert.-butyl-hydrochinon, 2,6-Di-tert.-butyl-4-methylphenol, 4-Hydroxybiphenyl, 2-Hydroxydiphenyl-methan, 2-(2-Hydroxyphenyl)-benzothiazol, 5- Indanol, 2-Isopropoxyphenol, 4-Isopropyl-3-methylphenol, 5-Isopropyl-2-methylphenol, 4-Isopropylphenol, Laurylgallat, 2-Naphthol, 4-Nonylphenol, 3-(Pentadecyl)-phenol, 2-Propylphenol, 4-Propylphenol, Purpurin, Pyrogallol, 4-(1,1,3,3-Tetra-methylbutyl)-phenyl, 1,2,4-Trihydroxybenzol, 2,4,6-Trimethylphenol, 2,3,5-Trimethylphenol, 2,3,6-Trimethylphenol, 3,4,5-Trimethylphenol, 6,7-Dihydroxy-4-methylcumarin, 2-(2-Hydroxyethoxy)- benzaldehyd, 1-Naphthol, Nordihydroguaiarsäure, Octylgallat, Silibinin, 3,4,6- Trihydroxybenzoesäure-ester, 2,4,6-Tri-tert.-butylphenol, 2,4-Di-tert.-butylphenol, 2,6-Dichlorphenolindophenol, 7-Quin, 1-Aminoanthraquinon, 2-Amino-5-chlorobenzophenon, 4-Aminodiphenyl-amin, 7-Amino-4-hydroxy-2-naphthalensulfonsäure, 2-(4-Aminophenyl)-6-methylbenzothiazol, Benzanthron, Trioctyltrimellitat, trans-Chalcon, Bis-(4-amino-phenyl)-amin-sulfat, 2,2'-Ethylenbis-(4,6-di-tert.-butylphenol), 2,2-Bis-(2,6-dibrom-4-(2-hydroxyethoxyphenyl)-propan, Bis-(3,5-di-tert.-butyl-4-hydroxyphenyl)-methan, 2,2-Bis-(3,5-dichlor-4-hydroxyphenyl)-propan, Bismarck Brown Y, 1-Bromonaphthalen, 4-Butylanilin, 2-tert.-butyl-5-methylphenol, 1-Chloroanthrachinon, 2-Chloroanthrachinon, Triallyl-1,3,5-benzoltricarboxylat, 1,1-Tris-(hydroxymethyl)-propan-trimethacrylat, Pentaerythrityl-triacrylat, 1,2,4-Trivinylcyclohexan, trans,cis-Cycloododeca-1,5,9-trien, Pentaerythritol-tetrabenzoat, 4,4'-Methylenbis-(2,6-di-tert.-butylphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dichlorophenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2,6-dibromphenol), 4,4'-Isopropyliden-bis(2-(2,6-m-phenoxy)ethanol, 2,2'Ethylenbis-4,6-di-tert.-butyl-phenol), 3-tert-Butyl-4-hydroxy-5-methyl-phenyl, 5-tert-Butyl-4-hydroxy-2-methyl-phenyl, Syringaldazin, 4,4'-Dimethoxy-triphenylmethan, Di-sec. Butylphenol.

Weiterhin besonders bevorzugt sind Stoffe, die mehrere Hydroxylgruppen besitzen wie:

Ellagsäure, Gallussäure, Gallein, Gallangin, Myo-Inositol, Morin, Nitransäure, Phenolphthalein, Purpurin, Purpurogallin, Quinizarin, Chrysazin, Quercitin, Quinhydrin, Chloranilsäure, Carmin, Rhodizonsäure, Croconsäure, Mellitinsäure, Hematoxin, 9-Phenyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, 9-Methyl-2,3,7-trihydroxy-6-fluoren, Tetrahydroxy-p-benzochinon, 2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenon, Pyrogallol Red, 1-Nitrophloroglucinol, 1,4-Dihydroxyanthrachinon, 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthochinon, Hexaoxocyclohexanoctahydrat, 5,7-Dihydroxyflavanon,

3',4'-Dihydroxy-flavanon, Glyoxalhydrat, 1,3,5-Tris(2-Hydroxyethyl)-isocyanursäure, Chinalizarin, 2,4,5-Trihydroxybenzamin.

84. Verfahren nach Anspruch 83, dadurch gekennzeichnet, daß im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System als phenolische Substanz, bzw. Polycyclus mit mehreren oxidierbaren Hydroxylgruppen zur Veränderung des pH-Optimums der Druckfarbablösereaktion und Beeinflußung des Altpapierfaser-Quellverhaltens mit Vorzug z.B. Bisphenol A in einer Konzentration von 1 bis 2000 mg pro kg lutro Altpapier, bevorzugt in einer Konzentration von 1 bis 500 mg pro kg Altpapier eingesetzt wird.

85. Verfahren nach Anspruch 77, dadurch gekennzeichnet, daß zum erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Reduktionsmittel, wie:

m-Bisulfit, Natrium-Dithionit, Ascorbinsäure, Thiolverbindungen, Mercaptoverbindungen oder Glutathion mit Vorzug Natrium-Bisulfit und/oder Natrium-Dithionit in einer Konzentration von 0.1 bis 1000 mg pro kg lutro Altpapier, bevorzugt in einer Konzentration von 0.1 bis 200 mg pro kg Altpapier zugesetzt werden.

86. Verfahren nach Anspruch 77, dadurch gekennzeichnet, daß zum erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System zur Sammlung der Druckfarbpartikel und zur Schaumerzeugung bei der Flotation handelsübliche Sammler, bevorzugt Incopur-Typen, z.B. Incopur RSGA in einer Konzentration von 1 bis 5000 mg pro kg lutro Altpapier, bevorzugt von 1 bis 1000 mg pro kg Altpapier zugesetzt werden.

87. Verfahren nach Anspruch 77, dadurch gekennzeichnet, daß zum erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System weitere Enzyme wie Cellulasen und/oder Hemicellulasen wie Xylanase und/oder Mannanase und/oder Pektinasen und/oder Oxidoreduktasen zugegeben werden.

88. Verfahren nach Anspruch 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System als Oxidationssystem in der organischen Synthese eingesetzt wird.

89. Verfahren nach Anspruch 88, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion des erfindungs-

mäßigen Enzym-Komponenten-System in einem pH-Bereich von pH 2 bis 11, vorzugsweise pH 3 bis 9, bei einer Temperatur von 20 bis 95 °C, vorzugsweise 40 bis 95 °C, in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis leichtem Überdruck (bis 2 bar) durchgeführt wird.

90. Verfahren nach Anspruch 88, dadurch gekennzeichnet, daß als Enzym im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System bevorzugt Lipase aus *Humicola lanuginosa* in einer Konzentration von 0.05 bis 5 mg pro 10mmolar Substrat, bevorzugt 0.05 bis 3 mg pro 10mmolar Substrat (ca. 250 bis 15000 IU) eingesetzt wird.

91. Verfahren nach Anspruch 88, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationsmittel im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System, vorzugsweise  $H_2O_2$  in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro 10mmolar Substrat (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 30 mg pro 10mmolar Substrat zugesetzt wird.

92. Verfahren nach Anspruch 88, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 3) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Fettsäuren in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt  $C_6$  bis  $C_{26}$ , besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$ , ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro 10mmolar Substrat, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 30 mg pro 10mmolar Substrat eingesetzt werden.

93. Verfahren nach Anspruch 88, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 4) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Ketone, bevorzugt z.B. Benzophenone, in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro 10mmolar Substrat, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 30 mg pro 10mmolar Substrat eingesetzt werden.

94. Verfahren nach Anspruch 88, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationsreaktionen für das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System z.B. folgende ausgeführt werden:

#### 1) Hydroxylierungsreaktionen

- a) Synthese von Alkoholen
- b) Hydroxylierung von Steroiden
- c) Hydroxylierung von Terpenen
- d) Hydroxylierung von Benzolen
- e) Hydroxylierung von Alkanen
- f) Hydroxylierung von aromatischen Verbindungen
- g) Hydroxylierung von Doppelbindungen

- h) Hydroxylierung von unaktivierten Methylgruppen
- i) Dihydroxylierung von aromatischen Verbindungen

## 2) Oxidation von ungesättigten Aliphaten

- a) Herstellung von Epoxiden
- b) Herstellung von Verbindungen über Epoxierung
- c) Herstellung von Arenoxiden
- d) Herstellung von Phenolen
- e) Herstellung von *cis* Dihydrodiolen

## 3) Baeyer-Villiger Oxidationen

- a) Baeyer-Villiger Conversion von Steroiden

## Oxidation von Heterocyclen

- a) Transformation von organischen Sulfiden
- b) Oxidation von Schwefelverbindungen
- c) Oxidation von Stickstoffverbindungen (Bildung von N-Oxiden etc.)
- d) Oxidation von anderen Heteroatomen

## 5) Kohlenstoff-Kohlenstoff Dehydrogenierungen

- a) Dehydrogenierung von Steroiden

## 6) Andere Oxidationsreaktionen

- a) Oxidation von Alkoholen und Aldehyden
- b) Oxidation von aromatischen Methylgruppen zu Aldehyden
- c) Oxidative Kupplung von Phenolen
- d) Oxidativer Abbau von Alkylketten ( $\beta$ -Oxidation etc.)
- e) Bildung von Peroxiden oder Peroxyverbindungen
- f) Initiierung von Radikalkettenreaktionen

95. Verfahren nach Anspruch 88, dadurch gekennzeichnet, daß als Substrate für Oxidationsreaktionen für das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System z.B. aromatische Alkohole oder aromatische Methylverbindungen eingesetzt werden.

96. Verfahren nach Anspruch 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System zur enzymatischen Kohleverflüssigung eingesetzt wird.

97. Verfahren nach Anspruch 96, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System in einem pH-Bereich von pH 2 bis 11, vorzugsweise pH 3 bis 9, bei einer Temperatur von 20 bis 95 °C, vorzugsweise 40 bis 95 °C, in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck bis leichtem Überdruck (bis 2 bar) und einer Stoffdichte von 0.5 bis 40%, vorzugsweise bei einer Stoffdichte von 4 bis 15 % durchgeführt wird.

98. Verfahren nach Anspruch 96, dadurch gekennzeichnet, daß als Enzym im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System bevorzugt Lipase aus *Humicola lanuginosa* in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g atro gemahlener Braunkohle, bevorzugt 0.05 bis 10 mg pro g Kohle (ca. 250 bis 50000 IU) eingesetzt wird.

99. Verfahren nach Anspruch 96, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationsmittel im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System, vorzugsweise  $H_2O_2$  in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro g Kohle (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 50 mg pro g Kohle zugesetzt wird.

100. Verfahren nach Anspruch 96, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 3) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Fettsäuren in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt  $C_6$  bis  $C_{26}$ , besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$ , ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro g Kohle, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro g Kohle eingesetzt werden.

101. Verfahren nach Anspruch 96, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 4) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Ketone, bevorzugt z.B. Benzophenone, in einer Konzentration von 0.05 bis 100 mg pro g Kohle, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro g Kohle eingesetzt werden.

102. Verfahren nach Anspruch 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System als Bleichmittel in Waschmitteln eingesetzt wird.



103. Verfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System in einem pH-Bereich von pH 2 bis 12, vorzugsweise pH 3 bis 10, bei einer Temperatur von 20 bis 95 °C, vorzugsweise 30 bis 95 °C, in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck durchgeführt wird.

104. Verfahren nach Anspruch 102 dadurch gekennzeichnet, daß als Enzym im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System bevorzugt Lipase aus *Humicola lanuginosa* in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro 100 ml Waschlösung, bevorzugt 0.05 bis 10 mg pro 100 ml Waschlösung (ca. 250 bis 50000 IU) eingesetzt wird.

105. Verfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationsmittel im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System, vorzugsweise  $H_2O_2$  in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro 100 ml Waschlösung (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 20 mg pro 100 ml Waschlösung zugesetzt wird.

106. Verfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 3) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Fettsäuren in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt  $C_6$  bis  $C_{26}$ , besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$ , ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro 100 ml Waschlösung, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro 100 ml Waschlösung eingesetzt werden.

107. Verfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 4) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Ketone, bevorzugt z.B. Benzophenone, in einer Konzentration von 0.05 bis 50 mg pro 100 ml Waschlösung, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro 100 ml Waschlösung eingesetzt werden.

108. Verfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, daß dem erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System kationenbildende Metallsalze zugesetzt werden.

109. Verfahren nach Anspruch 108, dadurch gekennzeichnet, daß die Kationen  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Mn^{3+}$ ,  $Mn^{4+}$ ,  $Cu^+$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ti^{3+}$ ,  $Cer^{4+}$ ,  $Mg^{2+}$  und  $Al^{3+}$  sind.

110. Verfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System zusätzlich Polysaccharide und/oder Proteine enthält.

111. Verfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, daß dem erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System als Polysaccharide Glucane, Mannane, Dextrane, Lävane, Pektine, Alginat oder Pflanzengummis und als Proteine Gelantine, Albumin zugefügt werden.

112. Verfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, daß dem erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System als Zusätze Einfachzucker, Oligomerzucker, Aminosäuren, Polyethylenglykole, Polyethylenoxide, Polyethylenimine und Polydimethylsiloxane zugefügt werden

erfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System zusätzlich phenolische Verbindungen und/oder nicht phenolische Verbindungen mit einem oder mehreren Benzolkernen enthalten kann.

114. Waschmittel enthaltend das Enzym-Komponentensystem nach den Ansprüchen 102 bis 113.

115. Verwendung des Enzym-Komponenten-Systems nach den Ansprüchen 1 bis 26 und 102 bis 114 als Zusatz zu Waschformulierungen mit an sich bekannten waschaktiven Substanzen oder Waschmitteladditiven.

erfahren nach Anspruch 1 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß das erfindungsmäßige Enzym-Komponenten-System bei der Bleiche und/oder beim Entfärben von Textilgeweben eingesetzt wird.

117. Verfahren nach Anspruch 116, dadurch gekennzeichnet, daß die Reaktion des erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System in einem pH-Bereich von pH 2 bis 11, vorzugsweise pH 3 bis 9, bei einer Temperatur von 20 bis 95 °C, vorzugsweise 40 bis 95 °C, in Gegenwart von Sauerstoff oder Luft bei Normaldruck und bei einer Stoffdichte von 0.5 bis 40%, bevorzugt bei einer Stoffdichte von 4 bis 35%, insbesondere bevorzugt bei einer Stoffdichte von 4 bis 15 % durchgeführt wird.

118. Verfahren nach Anspruch 116 dadurch gekennzeichnet, daß als Enzym im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System bevorzugt Lipase aus *Humicola lanuginosa* in einer Konzentration von 0.05 bis 10 mg pro g Denim, bevorzugt 0.05 bis 5 mg pro g Denim (ca. 250 bis 25000 IU) eingesetzt wird.

119. Verfahren nach Anspruch 116, dadurch gekennzeichnet, daß als Oxidationsmittel im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System, vorzugsweise  $H_2O_2$  in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Denim (100%ige Ware), vorzugsweise 0.05 bis 10 mg pro g Denim zugesetzt wird.

120. Verfahren nach Anspruch 116, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 3) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Fettsäuren in Ein- oder Mehrzahl, bevorzugt  $C_{26}$ , besonders bevorzugt  $C_8$  bis  $C_{16}$ , ganz besonders bevorzugt Tetradecansäure oder Dodecansäure in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Denim, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 10 mg pro g Denim eingesetzt werden.

121. Verfahren nach Anspruch 116, dadurch gekennzeichnet, daß als Systemkomponente 4) im erfindungsmäßigen Enzym-Komponenten-System Ketone, bevorzugt z.B. Benzophenone, in einer Konzentration von 0.05 bis 20 mg pro g Denim, bevorzugt in einer Konzentration von 0.05 bis 10 mg pro g Denim eingesetzt werden.

**Zusammenfassung:**

Es wird ein Oxidations- und Bleichsystem mit enzymatisch hergestellten Oxidationsmitteln beschrieben, nämlich ein

**Enzym-Komponenten-System (ECS) als Oxidations und Bleichsystem zur Herstellung von speziellen hochselektiven Oxidationsmitteln,**

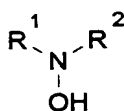
**bestehend aus:**

- a) Systemkomponente 1): mindestens einer Hydrolase aus der Enzymklasse 3.1, 3.1.1, 3.1.2, 3.1.3, 3.1.4 oder 3.1.7 und/oder mindestens einer Hydrolase aus der Enzymklasse 3.5, 3.5.1, 3.5.2, 3.5.3, 3.5.4, 3.5.5 oder 3.5.99,**
- b) Systemkomponente 2): mindestens einer Fettsäure, bevorzugt C<sub>6</sub> bis C<sub>26</sub> ( gesättigt, α, ω- oder mehrfach ungesättigt),**
- c) Systemkomponente 3): mindestens einem Precursor-Oxidationsmittel zur Reaktion mit den Enzymen,**
- d) Systemkomponente 4): mindestens einem Keton aus der Gruppe der Carbonylverbindungen.**

**Appendix IV:**

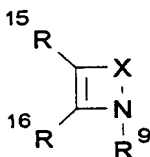
**Appendix IV** zeigt die Formeln von erfindungsgemäß als Zusatz zum Enzym-Komponenten-System (ECS) einsetzbaren Mediatoren/Mediationsverstärkern (NO-, NOH-, und HNR-OH-Verbindungen), die zusammen mit Oxidoreduktasen angewendet werden, wie z.B.:

**Hydroxylamine. (Offenkettig oder cyclisch, aliphatisch oder aromatisch, heterocyclisch) der allgemeinen Formel,**



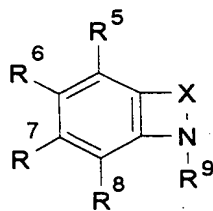
(I)

**wie Verbindungen der allgemeinen Formel II:**



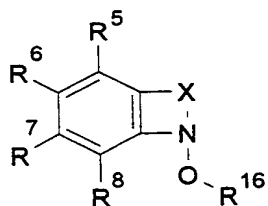
(II)

**wie Verbindungen der allgemeinen Formel III:**



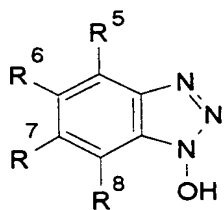
Formel III

wie Verbindungen der allgemeinen Formel IV:



Formel IV

wie Verbindungen, d.h. Derivate des 1-Hydroxybenzotriazols und des tautomeren Benzotriazol-1-oxides, sowie deren Ester und Salze bevorzugt erbindungen der Formel V) :



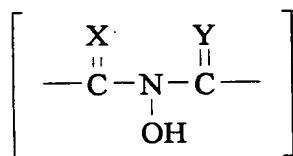
Formel V

wie z.B. folgende Verbindungen:

- 1-Hydroxybenzotriazol,
- 1-Hydroxybenzotriazol, Natriumsalz,
- 1-Hydroxybenzotriazol, Kaliumsalz,
- 1-Hydroxybenzotriazol Lithiumsalz,
- 1-Hydroxybenzotriazol Ammoniumsalz,
- 1-Hydroxybenzotriazol Calciumsalz,
- 1-Hydroxybenzotriazol, Magnesiumsalz,
- 1-Hydroxybenzotriazol-6-sulfonsäure, Mononatriumsalz,
- 1-Methoxy-1H-benzotriazol
- 1-Acetoxy-1H-benzotriazol
- 1-Hydroxy-(4,5-f)-dioxolo-1H-benzotriazol
- 1-Hydroxy-6-methyl-1H-benzotriazol
- 1-Hydroxy-6-nitro-1H-benzotriazol
- 1-Hydroxy-5,6-dimethyl-1H-benzotriazol
- 1-Hydroxy-6-methoxy-1H-benzotriazol
- 1-Hydroxy-5,6-dimethoxy-1H-benzotriazol
- 1-Hydroxy-1H-benzotriazol-6-carbonsäure
- 1,5-Dihydroxy-1H-benzotriazol
- 1-Hydroxy-1H-benzotriazol-6-sulfonsäurehydrazid
- 1-Hydroxy-1H-benzotriazol-6-carbonsäureamid
- 1-Hydroxy-5-methoxy-1H-benzotriazol
- 6-Amino-1hydroxy-1H-benzotriazol

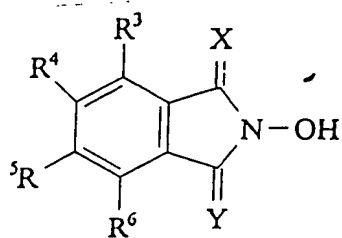
6-Chlor-1hydroxy-1H-benzotriazol  
 6-Acetamido-1-hydroxy-1H-benzotriazol  
 1-Hydroxy-1H-benzotriazol-6-carbonsäureethylester  
 1-Hydroxy-4-nitro-1H-benzotriazol  
 4-Chlor-1-hydroxy-1H-benzotriazol  
 1-Hydroxy-6-tert.-butyl-1H-benzotriazol  
 6-Cyclohexyl-1-hydroxy-1H-benzotriazol  
 6-Isopropyl-1-hydroxy-1H-benzotriazol  
 1-Hydroxy-6-phenyl-1H-benzotriazol  
 3-Methyl-3H-benzotriazol-1-oxid  
 2-Phenyl-2H-benzotriazol-1-oxid

**Wie Verbindungen der allgemeine Formel A (cyclische N-Hydroxyverbindungen):**

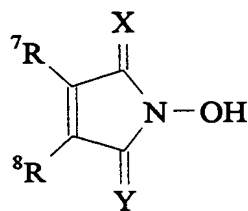


Formel A

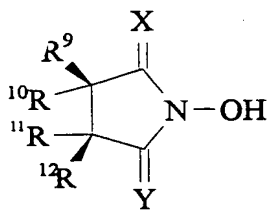
Wie Verbindungen der allgemeinen Formeln VI, VII, VIII oder IX:



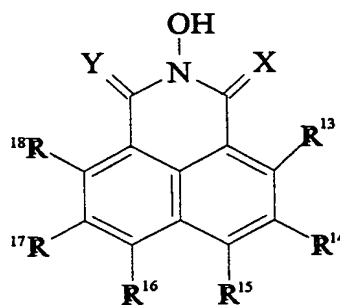
Formel VI



Formel VII



Formel VIII



Formel IX

Wie z.B. Verbindungen wie:

N-Hydroxy-phthalimide sowie ggf. substituierte N-Hydroxy-phthalimid-Derivate,

N-Hydroxymaleimide sowie ggf. substituierte N-Hydroxymaleimid-Derivate,

N-Hydroxy-Naphthalsäureimide sowie ggf. substituierte

Hydroxy-Naphthalsäureimid-Derivate,

.-Hydroxysuccinimide und ggf. substituierte N-Hydroxysuccinimid-Derivate,

wie z.B.:

N-Hydroxyphthalimid, N-Hydroxy-benzol-1,2,4-tricarbonsäureimid,

N,N'-Dihydroxy-pyromellitsäurediimid,

N,N'-Dihydroxy-benzophenon-3,3',4,4'-tetracarbonsäurediimid,

wie z.B. (Formel VII):

N-Hydroxymaleimid, Pyridin-2,3-dicarbonsäure-N-hydroxyimid,

wie z.B. (Formel VIII):

N-1-Hydroxysuccinimid, N-1-Hydroxyweinsäureimid,

N-Hydroxy-5-norbornen-2,3-dicarbonsäureimid,

exo-N-Hydroxy-7-oxabicyclo[2.2.1]-hept-5-en-2,3-dicarboximid,



N-Hydroxy-cis-cyclohexan-1,2-dicarboximid,

\* N-Hydroxy-cis-4-cyclohexen-1,2-dicarbonsäureimid,

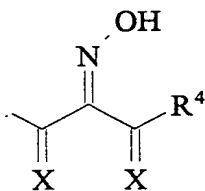
wie z.B. (Formel IX):

N-Hydroxynaphthalsäureimid-Natrium-Salz.

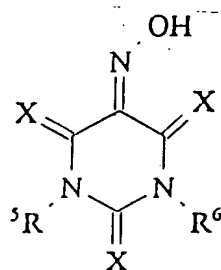
wie z.B. (sechsgliedriger Ring nach Formel A):

N-Hydroxyglutarimid.

**Wie Verbindungen der allgemeinen Formel X oder XI (Oxime):**



Formel X



Formel XI

**Wie z.B. (Formel X):**

2-Hydroxyiminomalonsäuredimethylester,

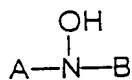
**wie z.B. (Formel XI):**

1-Methylviolursäure, 1,3 Dimethylviolursäure, Thioviolursäure, Alloxan-4,5-dioxim.

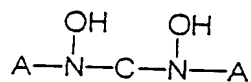
\* Alloxan-5-oxim Hydrat (Violursäure) und/oder dessen Ester oder Salze.

Wie Verbindungen aus der Klasse der N-Aryl-N-Hydroxy-Amide der  
allgemeinen Formel XII, XIII und XIV, XIV a, XIV b, XIX c, XIV d und XIV e:

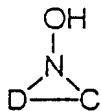
(XII)

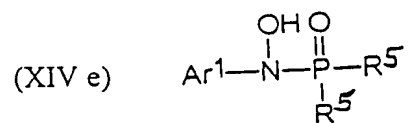
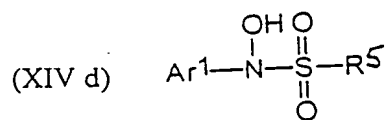
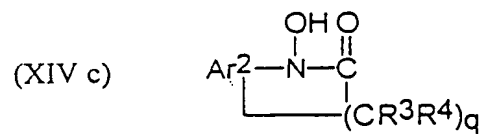
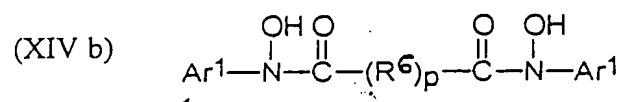
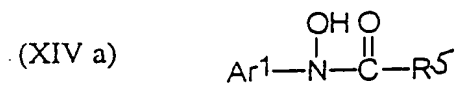


(XIII)



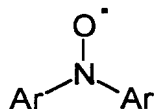
(XIV)



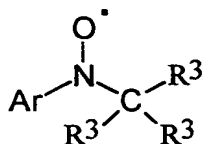


Wie Verbindungen der allgemeinen Formel XV, XVI und XVII (Nitroxyl-Radikale/Nitroxide):

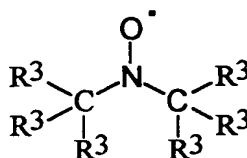
(XV)



(XVI)

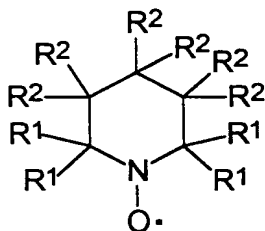


(XVII)

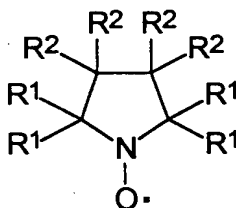


Wie Verbindungen der allgemeinen Formel (XVII a und (XVII b) (Nitroxyl-Radikale):

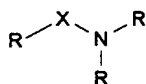
XVII a



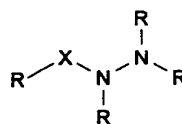
XVII b



Wie Verbindungen der allgemeinen Formel XVIII a (Amide) und XVIII b (Hydrazide):

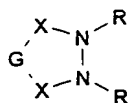


Formel XVIII a



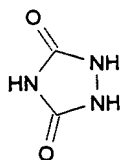
Formel XVIII b

Wie Verbindungen der allgemeinen Formel (cyclische Hydrazide) XVIII c:

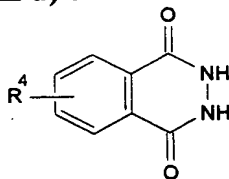


Formel XVIII c

Wie Verbindungen Urazole (Formel XVIII d) und Phthalhydrazide (Formel XVIII e):

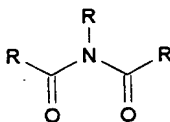


Formel XVIII d

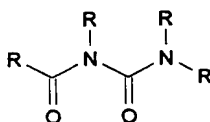


Formel XVIII e

Wie Verbindungen der allgemeinen Formel XIX (Imide):

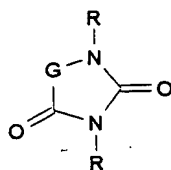


Wie Verbindungen (Imide) der allgemeinen Formel XIX a:



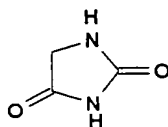
Formel XIX

Wie Verbindungen der allgemeinen Formel XIX b (cyclische Imide):



(XIX b)

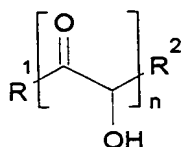
Wie Verbindungen der allgemeinen Formel XIX c (Derivate des Hydantoins):



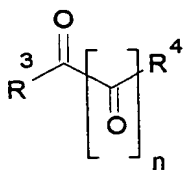
Formel XIX c

Wie Verbindungen der allgemeinen Formel XX, wie  $\alpha$ -Hydroxycarbonylverbindungen der allg. Formel XX a,  $\alpha$ -Dicarbonylverbindungen der allgemeinen Formel XX b,  $\beta$ -Hydroxycarbonylverbindungen der allgemeinen Formel XX c, sowie Dicarbonylverbindungen der allgemeinen Formel XX d:

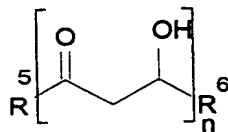
XX a



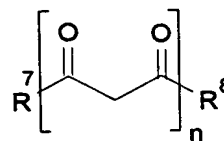
XX b



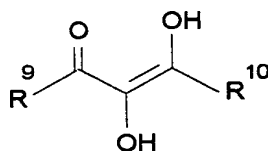
XX c



XX d



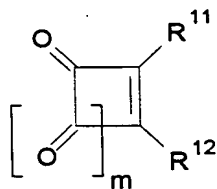
Wie Verbindungen der allgemeinen Formel XXI (offenkettige Verbindungen mit Doppelbindungen/Enole):



Formel XXI

Wie Verbindungen der allgemeinen Struktur XXII

(cyclische Verbindungen, Reste nicht OH, Derivate der Quadratsäure, OH-Gruppe derivatisiert):



XXII

z.B.:

Leiecksäure, Quadratsäure, Krokonsäure, Rhodizonsäure.

\* Die Formelbezeichnungen (Reste/ R..) sind der Anmeldung DE 197 19 857. 0 dargelegt.

**Appendix IVa:**

**Appendix IVa** zeigt Verbindungen, die als Mediationsverstärker v.a. als Zusatz zusammen mit Mediatoren und Oxidoreduktasen zum erfindungsgemäßen Enzym-Komponenten-System (ECS) hinzugefügt werden können wie:

**aliphatische Ether, arylsubstituierte Alkohole wie:**

2,3-Dimethoxybenzylalkohol, 3,4-Dimethoxybenzylalkohol,  
 2,4-Dimethoxybenzylalkohol, 2,6-Dimethoxybenzylalkohol, Homovanillylalkohol,  
 Ethylenglykolmonophenylether, 2-Hydroxybenzylalkohol,  
 4-Hydroxybenzylalkohol, 4-Hydroxy-3-methoxybenzylalkohol,  
 2-Methoxybenzylalkohol, 2,5-Dimethoxybenzylalkohol,  
 4-Dimethoxybenzylamin, 2,4-Dimethoxybenzylamin-hydrochlorid,  
 Veratrylalkohol, Coniferylalkohol,  
 Olefine(Alkene), wie z B. 2-Alkylphenol, 2-Allyl-6-methylphenol, Allylbenzol,  
 3,4-Dimethoxy-propenylbenzol, p-Methoxystyrol, 1-Allylimidazol,  
 1-Vinylimidazol, Styrol, Stilben, Allylphenylether, Zimtsäurebenzylester,  
 Zimtsäuremethylester, 2,4,6-Triallyloxy-1,3,5-triazin, 1,2,4-Trivinylcyclohexan,  
 4-Allyl-1,2-dimethoxybenzol, 4-tert-Benzoessäurevinylester, Squalen,  
 Benzoinallylether, Cyclohexen, Dihydropyran, N-Benzylzimtsäureanilid.

**Phenoether wie:**

2,3-Dimethoxybenzylalkohol, 3,4-Dimethoxybenzylalkohol, 2,4-Dimethoxybenzylalkohol, 2,6-Dimethoxybenzylalkohol, Homovanillylalkohol,  
 4-Hydroxybenzylalkohol, 4-Hydroxy-3-methoxybenzylalkohol,  
 2-Methoxybenzylalkohol, 2,5-Dimethoxybenzylalkohol,  
 3,4-Dimethoxybenzylamin, 2,4-Dimethoxybenzylamin-hydrochlorid,  
 Veratrylalkohol, Coniferylalkohol, Veratrol, Anisol.

**Carbonylverbindungen wie:**

4-Aminobenzophenon, 4-Acetylbiphenyl Benzophenon, Benzil,  
 Benzophenonhydrazon, 3,4-Dimethoxybenzaldehyd, 3,4-Dimethoxybenzoesäure,  
 3,4-Dimethoxybenzophenon, 4-Dimethylaminobenzaldehyd, 4-Acetylbiphenylhydrazon,  
 Benzophenon-4-carbonsäure, Benzoylacetone, Bis(4,4'-dimethylamino)-benzophenon,  
 Benzoin, Benzoinoxim, N-Benzoyl-N-



phenyl-hydroxylamin, 2-Amino-5-chlor-benzophenon, 3-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyd, 4-Methoxybenzaldehyd, Anthrachinon-2-sulfonsäure, 4-Methylaminobenzaldehyd, Benzaldehyd, Benzophenon-2-carbonsäure, 3,3',4,4'-Benzophenontetracarbonsäuredianhydrid, (S)-(-)-2-(N-Benzylpropyl)-aminobenzophenon, Benzylphenylelessigsäureanilid, N-Benzylbenzanilid, 4,4'-Bis-(dimethylamino)-thiobenzophenon, 4,4'-Bis-(diacetylamino)-benzophenon, 2-Chlorbenzophenon, 4,4'-Dihydroxybenzophenon, 2,4-Dihydroxybenzophenon, 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzaldehydhydrazin, Hydroxybenzophenon, 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon, 4-Methoxybenzophenon, 3,4-Dihydroxybenzophenon, p-Anissäure, nisaldehyd, 3,4-Dihydroxybenzaldehyd, 3,4-Dihydroxybenzoesäure, Dimethoxy-4-hydroxybenzaldehyd, 3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzoesäure, 4-Hydroxybenzaldehyd, Salicylaldehyd, Vanillin, Vanillinsäure.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**